

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
& DE PHARMACIE DE LYON

Année 1963 - N° 254

**MODIFICATIONS DE LA TENEUR
EN HEXOSAMINES DE LA PAROI AORTIQUE
DU LAPIN AU COURS DES PREMIERS STADES
DE L'ATHEROSCLEROSE EXPERIMENTALE**

*Travail du Laboratoire de Chimie biologique et médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON*

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
et soutenue publiquement le 20 Décembre 1963
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Georges VABRES

né le 6 Février 1938 à CHAMBERY (Savoie)
Élève de l'École du Service de Santé Militaire

GRENIER & FILS

Imprimeurs

TASSIN (Rhône)

- 1963 -

**MODIFICATION DE LA TENEUR
EN HEXOSAMINES DE LA PAROI AORTIQUE
DU LAPIN AU COURS DES PREMIERS STADES
DE L'ATHEROSCLEROSE EXPERIMENTALE**

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyens honoraires : M. J. LEPINE, membre de l'Institut ; M. H. HERMANN, Correspondant de l'Institut

Doyen : M. J.-F. CIER.

Assesseurs : MM. M. LEVRAT, L. REVOL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET.

PROFESSEURS

Clinique urologique	MM. CIBERT
Physique biologique	PONTHUS
	(détaché à Beyrouth)
Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale	DECHAUME
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Clinique médicale B	PAUPERT-RAVAULT
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires	FROMENT
Clinique médicale C	CROIZAT
Chimie biologique et médicale	ENSELME
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY
Pharmacie galénique	REVOL
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Médecine obstétricale	PIGEAUD
Médecine du travail	BOURRET
Clinique médicale A	LEVRAT
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER
Botanique et cryptogamie	NETIEN
Clinique chirurgicale C	BERTRAND
Chimie analytique pharmaceutique	BADINAND
Pharmacie chimique et pharmacologie	DREVON
Médecine légale et déontologie	ROCHE
Parasitologie et pathologie exotique	COUDERT
Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie	MOUNIER-KUHN
Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE
Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie	THIERS
Clinique de pneumo-phthisiologie	BRUN
Clinique traumatologique des membres	CREYSSEL
Clinique carcinologique	DARGENT
Anatomie pathologique	GUICHARD
Pathologie générale et expérimentale	GIRARD Paul
Anatomie	LATARJET
Pathologie chirurgicale	PEYCELON
Thérapeutique	GIRARD Marcel
Pathologie médicale	VACHON
Physio-pathologie des voies respiratoires	GALY
Radiologie	PAPILLON
Clinique des maladies infectieuses	JEUNE
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	GONIN
Bactériologie	MONNET
Physiologie et pathologie obstétricales	BANSSILLON
Physiologie B	CHATONNET
Clinique endocrinologique	GUINET
Clinique de chirurgie orthopédique	TRILLAT
Clinique stomatologique	FREIDEL
Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles	MARION Joseph
Matière médicale et législation pharmaceutique	DORCHE
Histologie et embryologie	DUMONT Louis
Chimie	PERROT
Physiologie A	CIER J.-F.
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire	PERRIN J.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge	X...
Biologie médicale et pharmacodynamie	X...

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine	MM. BERGER
Bactériologie	BERTOYE
Neuro-chirurgie	MANSUY
Chimie pharmaceutique	COLLET
Clinique de pédiatrie	SARROUY
Climatologie	LACROIX
Clinique chirurgicale propédeutique	LIARAS
Neuro-chirurgie	LECUIRE
Médecine générale	REVOL
Thérapeutique chirurgicale	GOINARD

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
& DE PHARMACIE DE LYON

Année 1963 - N° 254

**MODIFICATION DE LA TENEUR
EN HEXOSAMINES DE LA PAROI AORTIQUE
DU LAPIN AU COURS DES PREMIERS STADES
DE L'ATHEROSCLEROSE EXPERIMENTALE**

*Travail du Laboratoire de Chimie biologique et médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON*

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
et soutenue publiquement le 20 Décembre 1963
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Georges VABRES

né le 6 Février 1938 à CHAMBERY (Savoie)
Élève de l'École du Service de Santé Militaire

GRENIER & FILS
Imprimeurs
TASSIN (Rhône)

- 1963 -



PERSONNEL DE LA FACULTÉ (suite)

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Parasitologie	MM. ROMAN
Pharmacie chimique et pharmacologie	CIER André
Anatomie pathologique	FEROLDI
Physique biologique	MORET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

Chimie biologique	MM. CREYSSSEL Roger
Hygiène	THIVOLET
Parasitologie	GARIN
Electro-radiologie	PINET
Botanique et cryptogamie	ODDOUX
Chimie analytique	de SOLLIERS
Médecine du travail	TOLOT
Médecine générale	DESPIERRES
Neuro-psychiatrie	GUYOTAT
Chirurgie générale	DESCOTES
Pathologie expérimentale	JOUVET
Physique biologique	PEYRIN
Anatomie pathologique	TOMMASI
Electro-radiologie	BUFFARD
Médecine générale et thérapeutique	LEJEUNE
Stomatologie	de MOURGUES F.
Maladies infectieuses	NAUSSAC
Chirurgie générale	REBOUILLAT
Pédiatrie	ROMAGNY

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES STAGIAIRES

Anatomie	MM. DUROUX
Thérapeutique	BRETTE
Anatomie	BOUCHET
Hématologie	FAYRE-GILLY
Histologie et embryologie	GIROD
Chimie biologique	GRAS
Chimie analytique	MALLEIN
Hygiène	RIFFAT
Biologie médicale et pharmacodynamie	FAUCON
Physiologie	FLANDROIS
Bactériologie	VIALIER-RAYNARD

AGREGES EN EXERCICE

Obstétrique	M.M. BURTHIAULT	Neuro-psychiatrie	MM. SCHOTT
Pédiatrie et puériculture	FRANCOIS	Neuro-chirurgie	ALLEGRE
Oto-rhino-laryngologie ..	GIGNOUX	Electro-radiologie	CHASSARD
Chirurgie générale	GUILLEMIN	Orthopédie	FAYSSE
Chirurgie générale	JAUBERT	Oto-rhino-laryngologie ..	GAILLARD
	DE BEAUJEU	Médecine générale	GARDE
Chirurgie générale	MARION Pierre	Ophtalmologie	HUGONNIER
Chirurgie générale	MICHAUD	Pneumo-phthisiologie	KALB
Médecine générale	PLAUCHU	Médecine générale	LARBRE
Médecine générale	PONT	Chirurgie générale	MARET
Médecine générale	SAUTOT	Médecine générale	MORNEX
Chirurgie générale	TRAEGER	Médecine générale	NORMAND
Médecine générale	VIGNON	Médecine générale	PERRIN André
Ophtalmologie	BONAMOUR	Pédiatrie et puériculture ..	BETHENOD
Médecine légale	COLIN	Stomatologie	DUMAS
Dermatologie	COLOMB	Médecine générale	FRIES
Chirurgie générale	DE MOURGUES G.	Obstétrique	GARMIER
Médecine générale	DEVIC	Médecine générale	LAMBERT
Obstétrique	DUMONT Martial	Chirurgie générale	MICHOULIER
Urologie	DURAND	Médecine générale	NOEL
Chirurgie générale	FRANCILLON	Médecine générale	ROBERT
Chirurgie générale	SAUBIER	Orthopédie	SCHNEPP

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. J. ENSELME - Assesseurs : MM. A. CIER, GRAS, FLANDROIS.

A MES PARENTS

Je leur exprime ici mon affection et ma reconnaissance.

A MA FEMME ET A MON FILS PIERRE

Ce travail est pour nous trois le symbole d'un départ vers une vie nouvelle.

A MES BEAUX-PARENTS

A MA SŒUR

A MES BEAUX-FRÈRES

A TOUTE MA FAMILLE

A MA BELLE-FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur ENSELME

Nous lui sommes profondément reconnaissant de nous avoir accueilli dans son laboratoire, où nous avons pu nous familiariser avec de nombreuses techniques.

Il nous a fait l'honneur de nous inspirer notre sujet de thèse.

C'est avec regret que nous le quittons.

Qu'il croit à notre absolu dévouement.

A Monsieur le Professeur André CIER

La clarté de son enseignement nous fit,
dès notre année de P.C.B., aimer la chimie.
Nous le remercions de l'honneur qu'il
nous fait en acceptant de juger ce travail.

A Monsieur le Professeur Agrégé GRAS

Nous nous souviendrons avec gratitude
de sa bienveillance et de son amabilité.
Qu'il trouve ici l'expression de notre re-
connaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé FLANDROIS

Nous lui sommes reconnaissant de l'hon-
neur qu'il nous fait en acceptant de faire
partie de ce jury.

A Monsieur le Professeur SOHIER

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon

Expert de l'O.M.S. pour les maladies à virus

Nous lui sommes reconnaissant de la
bienveillance qu'il nous a témoignée.

Nous tenons à l'assurer de notre res-
pectueux dévouement.

A Monsieur le Docteur FREY

Il nous conseilla et nous guida dans nos
premières manipulations. Nous lui exprimons
notre sincère amitié.

A TOUS LES MEMBRES
DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

A TOUS CEUX QUI NOUS ONT AIDE
DANS CE TRAVAIL

A Monsieur le Médecin-Général Inspecteur BORON

*Professeur Agrégé du Val-de-Grâce
Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire de Lyon
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A Monsieur le Médecin-Colonel CAMELIN

*Professeur Agrégé du Val-de-Grâce
Médecin-Chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A Monsieur le Médecin-Commandant THALABARD

*Spécialiste des Hôpitaux Militaires
Chef du Service d'Ophtalmologie de l'Hôpital Militaire
d'Instruction Desgenettes*

A NOS MAITRES DE LA FACULTE

A NOS MAITRES DES HOPITAUX
CIVILS ET MILITAIRES DE LYON

A NOS CAMARADES

INTRODUCTION

Bien que Virchow (92), il y a plus de cent ans, ait postulé qu'une substance mucoïde de la paroi artérielle pourrait avoir un rôle dans l'athérogénèse, et que le dépôt des lipides serait secondaire à l'altération pathologique du tissu de connection, l'étude des modifications biochimiques de la paroi et du sérum a été surtout centrée sur les constituants lipidiques de ces tissus.

Actuellement, cette idée déjà ancienne a repris de l'importance et l'attention des chercheurs s'est reportée sur les constituants protéiques et mucopolysaccharidiques.

Les publications chimiques concernant les mucopolysaccharides et leurs variations dans l'athérosclérose sont, à l'heure actuelle, assez contradictoires.

Les publications de travaux histochimiques sur la substance fondamentale du tissu de connection ont plus d'unité mais ces méthodes ne permettent pas d'avoir de résultats quantitatifs et même qualitatifs homogènes.

Les altérations initiales de la substance fondamentale de la tunique interne de la paroi vasculaire, constatées tout d'abord chez l'homme, le furent ensuite lors de l'athérosclérose spontanée de l'animal. Actuellement, bien que cette question reste controversée, certains auteurs prétendent que dans l'athérosclérose expérimentale, quel que soit le mode d'induction, même par régime hypercholestérolé, les lésions initiales se manifestent par des modifications du tissu de connection de la paroi vasculaire, précédant le dépôt des lipides.

Devant une telle imprécision, nous avons pensé qu'il serait utile de reconsidérer ces problèmes et d'essayer de répondre à un certain nombre de questions :

C'est ainsi que :

— Dans une première partie, nous envisagerons brièvement les lésions initiales de l'athérosclérose sur le plan histologique :

- athérosclérose humaine,
- athérosclérose animale spontanée,
- athérosclérose animale expérimentale.

— Nous passerons en revue, dans une seconde partie, les connaissances chimiques actuelles sur les mucopolysaccharides du tissu artériel et leurs variations dans l'athérosclérose et plus particulièrement dans l'athérosclérose expérimentale.

— Nous exposerons enfin, dans un troisième chapitre, le protocole expérimental que nous avons utilisé et les résultats expérimentaux que nous avons obtenus lors de l'étude des hexosamines contenues dans la tunique interne de la paroi aortique de lapins normaux et de lapins soumis à un régime cholestérolé pendant un et deux mois.

CHAPITRE PREMIER

CONNAISSANCES ACTUELLES SUR L'HISTOGENESE DES LESIONS ATHEROSCLEREUSES

Les examens histologiques ayant, les premiers, mis en évidence les modifications protéiques et mucopolysaccharidiques des lésions à leur stade initial, et ces observations ayant conduit les chimistes à diriger leurs recherches dans le même sens, nous croyons devoir en faire un rappel et montrer leur unité, que ce soit dans l'athérosclérose humaine, dans celle qui se manifeste chez l'animal de façon spontanée ou expérimentale en utilisant le régime hypercholestérolé ou dans l'athérosclérose expérimentale induite par d'autres procédés.

I. — Athérosclérose humaine

Pour Moon (75-76-77), les processus histologiques observés dans le développement des lésions d'athérosclérose, sont essentiellement identiques aux processus de réparation des tissus de connexion à la suite d'une agression.

Chez l'homme, on peut diviser chronologiquement les réactions du tissu artériel en trois stades :

- 1° Réaction intimale à l'agression.
- 2° Maturation de la cicatrice fibreuse.
- 3° Dégénérescence du tissu de connexion.

Stade I. — Réaction intimale à l'agression.

Ce stade est représenté par une rupture et une fragmentation de la limitante élastique interne, associée à une production accrue de mucopolysaccharides.

Les rapports étroits existant entre la rupture et la dégénérescence de la limitante élastique interne, la formation de mucopolysaccharides et la prolifération de fibroblastes suggèrent que tous ces processus sont interdépendants.

Si cela est vrai, il faut admettre que la production simultanée de mucopolysaccharides et de fibroblastes constitue le mécanisme de régénération de la limitante élastique.

Mais si l'augmentation en mucopolysaccharides et la prolifération fibroblastique surviennent comme processus primaire, il se produit une rupture et une dégénérescence secondaire de la limitante élastique interne. Ces altérations peuvent alors être considérées comme le résultat de troubles dans le déroulement des processus métaboliques liés à la conservation du tissu élastique.

Stade II. — Maturation de la cicatrice fibreuse.

Au cours de ce stade, des fibres collagènes se développent dans la matrice mucoïde de la substance fondamentale et les fibroblastes se transforment en fibrocytes. Il y a diminution de la quantité des mucopolysaccharides.

Stade III. — Dégénérescence du tissu de connection.

Ce stade est essentiellement dégénératif. Il est caractérisé par l'absence de réponse des éléments du tissu de connection. Il y a formation de dépôts lipidiques et calcaires et apparition de lésions de la média.

Cette conception de l'histogénèse des plaques athéroscléreuses est également celle de Perrin (81), qui considère que les perturbations du métabolisme lipidique n'interviennent que secondairement et qu'elles sont une complication d'une lésion préexistante dans la constitution de laquelle les protéines et les complexes glycoprotéiques jouent un rôle essentiel.

Pour Gresham et Howard (44), la lésion initiale de l'athérosclérose humaine, telle qu'elle se voit chez l'enfant de trois ans, au niveau du départ des carotides, se compose histologiquement d'une aire intimale légèrement épaissie, composée principalement de collagène, d'élastine et de fibres musculaires lisses, contenant en quantités abondantes des mucopolysaccharides. La quantité de lipides est variable, la plupart du temps elle n'est pas plus importante que dans l'intima normale. Les lipides se trouvent sous forme de globules dans le stroma de la lésion, ou sous forme de petites particules dans le cytoplasme des cellules musculaires lisses.

Pour ces auteurs, il semble que la lésion primaire représente un processus de réparation dans un vaisseau endommagé par des agents dont la nature est inconnue, et que l'accumulation des lipides est une conséquence et non la cause des lésions de la paroi vasculaire.

Bouissou et Coll. (14) ont examiné cinquante aortes prélevées chez des sujets de tous âges. L'augmentation de la substance mucoïde dans l'intima ou entre les lames élastiques de la média, accompagne de façon habituelle les processus dégénératifs du vieillissement et les états pathologiques les plus divers.

La dégénérescence myxoïde des strates intimes apparaît comme étant le stade initial de l'athéromatose, le point de départ pour le dépôt consécutif de substances lipoprotéiques.

Loeper et Coll. (69), en étudiant les stades initiaux de l'athérosclérose, montrent que la surcharge lipidique ne se produit qu'exceptionnellement sur une artère saine. Elle apparaît au cours ou après des modifications qui intéressent l'ensemble de l'organe et non pas seulement la zone des dépôts. Ces modifications sont constituées par une hyperplasie du tissu conjonctif, une raréfaction et une fragmentation des fibres élastiques de la média, une métachromasie importante de la substance fondamentale.

L'infiltration lipidique serait, dans la plupart des cas, bien plus la conséquence de ces altérations que leur cause.

Les observations de Jokl et Greenstein (52), Minkowski (74), Fangman et Hellwig (34), Yater et Coll. (97), Enos et Coll. (29)

Gault et Usher (39), citées par Enselman et Frey (31), confirment ces conceptions sur les lésions initiales de l'athérosclérose humaine.

II. — Athérosclérose animale spontanée

1° SINGES.

Les lésions décrites par la plupart des auteurs sont semblables à celles observées chez l'homme.

Fox (36), examinant 769 singes, découvre des lésions chez huit d'entre eux. Steiner et Coll. (90) décrivent, dans l'aorte du gorille, des épaissements intimaux fibreux sans dépôts de lipides. Des dépôts lipidiques de l'intima sont trouvés chez la plupart des vieux babouins et les traînées lipidiques sont fréquentes chez les singes en captivité : Mc Gill et Coll. (73), Vastesaeger et Coll. (91). Lindsay et Chaikoff (64) ne signalent que des traces de lipides et considèrent que la plaque est essentiellement fibreuse. L'examen de l'aorte de deux babouins mâles montre en effet que celle-ci est parsemée de traînées, où le dépôt des lipides est un phénomène secondaire à la lésion initiale. Il existe dans ces dépôts d'importantes quantités de mucopolysaccharides. On note en outre une fragmentation de la limitante élastique interne dans la profondeur de la lésion.

Gresham et Howard (44) font les mêmes constatations chez les babouins en captivité.

2° CHIENS.

On note fréquemment, chez le chien âgé, des plaques fibro-élastiques intinales avec accumulation de mucopolysaccharides et une fragmentation des lamelles élastiques. Lindsay et Coll. (65).

3° PORCS.

L'examen de deux mille aortes de porcs de quatre mois à trois ans permet, à Gottlieb et Lalich (43), de mettre en évidence des plaques fibreuses avec seulement de petites quantités de matériel soudanophiles. Gresham et Howard (44) constatent dans l'aorte, les coronaires et les artères pulmonaires de porcs tués à l'âge de six mois, l'apparition de taches soudanophiles incluses dans des épais-

sissements fibro-élastiques de l'intima. Il y a rupture de la limitante élastique interne sous-jacente.

4° ELÉPHANTS.

Lindsay et Coll. (66) identifient, dans les coronaires d'un éléphant femelle de quarante-sept ans, des plaques fibro-élastiques contenant des mucopolysaccharides et du collagène ; les lipides sont rares et leur rôle semble secondaire. Il s'agit d'un herbivore.

5° CHATS.

L'intima de l'aorte et des coronaires contient des dépôts de mucopolysaccharides acides. Le collagène et les fibres élastiques se développent anormalement. Lindsay et Chaikoff (63).

6° OISEAUX.

Contrairement aux autres animaux, les oiseaux présentent des lésions athéromateuses spontanées importantes, semblables à celles de l'homme, avec accumulation de lipides et vascularisation des plaques. Ceci en particulier chez le pigeon « Carneau blanc », qui constitue, de plus, un des meilleurs exemples de l'influence de certains facteurs génétiques. Lofland et Clarkson (70). Il semble que les lésions initiales contiennent des mucopolysaccharides. Gresham (45).

III. — Athérosclérose expérimentale chez l'animal soumis à un régime hypercholestérolé

1° Observations obtenues à l'aide du microscope optique.

Les lésions qui apparaissent au bout de quelques mois chez le lapin soumis à un régime hypercholestérolé peuvent difficilement être comparées aux lésions précédentes. De tels lapins souffrent d'une lipoïdose expérimentale, et le dépôt des lipides dans la paroi aortique fait partie d'un processus général qui se produit dans les différents organes. Telle est du moins l'opinion de Gresham (44) et de nombreux auteurs.

Mais pour d'autres, comme Gerö et Coll. (41), l'histogénèse de l'athérosclérose par régime hypercholestérolé est caractérisée également par des modifications premières de la substance fondamentale du tissu de connection. Leurs études portent sur des lapins des deux sexes et des coqs Leghorn, soumis à un régime comprenant pour les premiers un gramme et pour les seconds deux grammes de cholestérol par jour. Les animaux sont sacrifiés, deux et quatre semaines après le début du traitement. Les premières modifications apparaissent dans l'aorte et sont visibles microscopiquement, alors que leur détermination macroscopique est encore impossible.

Le premier changement est un gonflement œdémateux des couches intimales et sous-intimales, ou une discrète soudanophilie aux mêmes endroits. L'infiltration cellulaire des foyers œdémateux est également visible.

Il n'est pas possible de démontrer la présence de lipides dans ces foyers. Dans de nombreux cas, l'œdème des couches intimales s'étend aux couches plus profondes et à cet œdème s'associe le dépôt de substances « Periodic Acid Schiff » (P.A.S.) positives. Même dans les foyers montrant de la soudanophilie, on note la présence de substances P.A.S. positives, probablement de nature mucopolysaccharidique. Dans les foyers où des substances de nature mucopolysaccharidique et des éléments soudanophiles se trouvent réunis, les quantités de celles-ci dépassent les quantités de celles-là et la prépondérance des substances lipidiques ne survient qu'à un stade plus tardif du développement. De même, la fibrose intimale sans participation lipidique est une modification relativement précoce.

Les modifications microscopiques des vaisseaux coronaires et des artères pulmonaires sont également caractéristiques avec, surtout chez le lapin, un gonflement des couches intimales et une augmentation des substances P.A.S. positives. Les substances mucopolysaccharidiques sont intra et extra-cellulaires.

Des phénomènes similaires sont signalés par Adlersberg et Coll. (1) et par Perrin, cité par Gonin (42).

2° *Utilisation de la microscopie électronique pour l'examen des stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale.*

Les observations en microscopie électronique montrent également des altérations protéiques initiales.

Chez le lapin soumis à un régime riche en cholestérol, Grogogeat, Bruy et Lenègre (46) relèvent les lésions suivantes : images de souffrance de la limitante élastique interne et apparition de nouvelles structures cellulaires et fibrillaires dans l'espace sous-endothélial.

Shimamoto (89) constate également que, dans l'espace extracellulaire exceptionnellement bien développé, qui s'observe dans les couches musculaires et sous-endothéliales des grandes artères, l'administration de cholestérol et d'adrénaline provoque une réaction œdémateuse et un grossissement remarquable de cet espace avec fractionnement des fibres élastiques et des fibrilles de collagène.

IV. — Athérosclérose animale expérimentale induite par d'autres procédés

1° Carence en pyridoxine.

Rinehart et Greenberg (85-86-87) ont décrit les modifications histologiques initiales des mucopolysaccharides chez le singe rendu athéroscléreux par carence en pyridoxine.

2° « Adrenocorticotrophin Hormon » (A.C.T.H.).

Wexler et Coll. (93-94) provoquent la formation de lésions athéroscléreuses chez des rats en les soumettant à des accouplements rapprochés. Ce type d'athérosclérose est favorisé par l'injection d'A.C.T.H. Les lésions sont caractérisées par l'accumulation sub-intimale de mucopolysaccharides et la prolifération fibroblastique, suivies par la destruction des lamelles élastiques. Plus tard surviennent une fibrose hyperplasique endothéliale, des dépôts de lipides et une calcification. Les altérations du tissu élastique se produisent indépendamment et secondairement aux altérations de la substance fondamentale et des fibroblastes. Les calcifications et les dépôts lipidiques montrent une affinité pour les régions riches en mucopolysaccharides.

CHAPITRE II

CONNAISSANCES CHIMIQUES SUR LES MODIFICATIONS DES MUCOPOLYSACCHARIDES ARTERIELS DANS L'ATHEROSCLEROSE HUMAINE ET DANS LES STADES INITIAUX DE L'ATHEROSCLEROSE EXPERIMENTALE

Les différents travaux sur l'histogénèse de l'athérosclérose nous ont montré une similitude dans l'évolution des lésions initiales. Les résultats obtenus sur le plan chimique sont-ils orientés dans le même sens ?

— Chez l'homme, l'étude des modifications est complexe, par suite de l'action de plusieurs facteurs sur le tissu aortique. En particulier, il est difficile de différencier la part qui revient à la sénescence de celle qui intéresse l'état athéroscléreux proprement dit. Les modifications du taux des constituants de la paroi aortique, chez un homme de soixante-dix ans, proviennent-elles uniquement de l'âge de cet individu, bien qu'il n'existe pas de lésions macroscopiquement visibles ? Ces modifications sont-elles le fait d'une athérosclérose débutante ?

— L'étude expérimentale, si elle permet de différencier ces deux facteurs, est cependant difficile à mener, du moins en règle générale, par suite de la faible quantité de matériel dont on peut disposer. Les études métaboliques *in vivo*, grâce aux isotopes radioactifs, sont nettement plus faciles à conduire expérimentalement.

Le plan de notre étude découlera de ces observations. Nous allons envisager successivement :

— les modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose humaine ;

— les modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose expérimentale.

I. — Modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose humaine

Les renseignements que nous allons obtenir sont de trois ordres :

— Indications sur les constituants primaires des mucopolysaccharides, c'est-à-dire, soufre, hexosamines totales, acide glycuronique.

— Estimation des proportions des divers polysides après extractions et séparations.

Cette distinction est cependant artificielle. En effet, devant la multiplicité des travaux que nous allons avoir à résumer, nous serons conduit bien souvent à envisager en même temps ces deux ordres de phénomènes.

— Incorporation *in vivo* du radiosulfate dans les mucopolysaccharides aortiques.

A. — INDICATIONS SUR LES CONSTITUANTS PRIMAIRES DES MUCOPOLYSACCHARIDES ET ESTIMATION DES PROPORTIONS DES DIVERS POLYSIDES.

1° Analysant les résultats obtenus à partir de 124 échantillons d'aorte descendante, Kirk et Dyrbye (56) ne trouvent pas de variations significatives, en fonction de l'âge, des hexosamines totales et du sulfate hydrolysable par les acides. En fonction du degré d'athérosclérose, il semble qu'il y ait une diminution des hexosa-

mines totales. Les résultats sont exprimés par rapport au poids de tissu frais et ne tiennent pas compte du dépôt de lipides dans les lésions sévères, ce qui peut modifier les valeurs trouvées. Quant au sulfate, il n'existe pas de différences significatives.

Les mêmes auteurs, après extraction des mucopolysaccharides et leur analyse (27-57-28-58), trouvent que les quantités obtenues à partir des aortes de sujets entre soixante et soixante-dix ans sont inférieures aux quantités obtenues dans les autres groupes. De même, le rapport galactosamine/glucosamine s'élève significativement, chez les sujets, entre soixante et soixante-dix ans.

2° Noble et Coll. (80) dosent dans l'intima aortique les hexosamines des parties normales et athéroscléreuses. Les hexosamines sont évaluées, d'une part dans l'extrait salin, et d'autre part dans le résidu insoluble. Les hexosamines totales restent inchangées. Mais il existe une tendance à l'augmentation du taux des hexosamines insolubles, en fonction du développement des lésions athéroscléreuses. Ce fait, qui suggère la formation de complexes insolubles, est à rapprocher des observations d'Enselme et Coll. (32), montrant une diminution des α_1 et β globulines dans les fragments athéroscléreux, par rapport aux fragments normaux, d'intima aortique extraite par une solution de chlorure de sodium à 9 %.

3° Kaplan et Meyer (54) ne signalent pas d'augmentation des mucopolysaccharides totaux extraits de la tunique interne de l'aorte en fonction de l'âge. Par contre, après précipitations fractionnées par l'éthanol, en présence de sels de calcium, ils montrent que le facteur âge intervient en provoquant :

- une augmentation de l'héparitine sulfate,
- une augmentation du chondroïtine sulfate B,
- une diminution de l'acide hyaluronique,
- une diminution du chondroïtine sulfate C.

4° Les travaux de Berenson (4), en ce qui concerne les variations des mucopolysaccharides totaux en fonction de l'âge, confirment ceci : ces composés semblent avoir tendance à diminuer lors de l'évolution des plaques athéroscléreuses.

5° Enselman, Frey et Henry (32) ne trouvent pas de modifications des hexosamines totales dans les fragments normaux et athéroscléreux.

6° En fonction de l'âge, Bertelsen (6-7) note un accroissement de la teneur en hydroxyproline et en hexosamines. Dans les plaques fibreuses, le taux des hexosamines ne montre pas de corrélation avec le degré d'athérosclérose. Il y a également un accroissement du rapport chondroïtine sulfate/hyaluronate.

7° Buddecke (17-18-19) signale une augmentation des hexosamines totales au cours de l'évolution de l'état athéroscléreux. Les déterminations quantitatives des mucopolysaccharides extraits montrent que l'augmentation porte, dans l'athérosclérose, sur les mucopolysaccharides neutres et acides. Dans les mucopolysaccharides acides, le rapport galactosamine/glucosamine augmente, alors que dans les mucopolysaccharides neutres l'inverse se produit.

Par séparation chromatographique des mucopolysaccharides, cet auteur démontre que :

— La quantité d'acide hyaluronique qui constitue, dans les conditions normales, 10 à 15 % des mucopolysaccharides totaux, diminue de moitié dans les aortes athéroscléreuses.

— Les quantités d'héparitine sulfate augmentent de 5 à 15 %.

— Il se produit une augmentation du chondroïtine sulfate B de 10 à 15 %.

— Le chondroïtine sulfate C (60 à 70 % des mucopolysaccharides totaux) reste à peu près constant.

8° Derblom et Nylander (24) font une comparaison entre l'artère fémorale normale et athéroscléreuse de l'homme. Ils montrent qu'une diminution de la teneur en hexosamines totales portant principalement sur la galactosamine, survient alors même que les lipides se déposent dans la paroi artérielle.

9° Böttcher (12) isole et purifie les mucopolysaccharides acides de l'intima et de la média d'aortes humaines. La teneur moyenne

en mucopolysaccharides des extraits secs et délipidés est relativement constante, quel que soit le degré d'athérosclérose. Il n'existe aucune relation entre cette teneur et l'âge des individus.

10° Examinant 71 aortes d'individus dont l'âge était compris entre deux et soixante-neuf ans, Kanabrocki et Coll. (53) constatent que la teneur en azote et en soufre reste relativement constante dans tous les cas. Les hexosamines totales augmentent avec l'âge. Les résultats sont rapportés au poids de tissu sec délipidé. Bien qu'il n'existe pas de plaques dans les fragments analysés, les auteurs se demandent si les variations sont dues uniquement à l'âge.

B. — RENSEIGNEMENTS OBTENUS PAR L'ETUDE DE L'INCORPORATION « IN VITRO » DU RADIOSULFATE DANS LES MUCOPOLYSACCHARIDES AORTIQUES.

Les résultats obtenus par Dyrbye (26), que ce soit en fonction de l'âge ou du degré d'athérosclérose, montrent une diminution de l'incorporation du radiosulfate. Les aortes (intima - média) étaient mises en incubation en présence de ^{35}S pendant 45 heures à 38°. Ces résultats sont contestables comme l'indique Picard (83), vu le trop long délai d'incubation. Cet auteur trouve une augmentation du ^{35}S incorporé dans les plaques athéromateuses par rapport au tissu artériel normal.

Hauss et Coll. (48) constatent que l'incorporation du radio-sulfate dans les mucopolysaccharides de fragments athéroscléreux est beaucoup plus importante que celle à laquelle on s'attend en ne tenant compte que de la pente de la courbe d'incorporation en fonction de l'âge.

Curran et Crane (23) arrivent aux mêmes conclusions. Ils suggèrent en outre que l'augmentation des mucopolysaccharides et du tissu fibreux est produite par une inflammation avasculaire qui serait une réponse réparatrice à certaines agressions produites par différentes substances comme la fibrine.

— Que conclure des travaux de ces différents auteurs ?

— Les hexosamines totales sont une des données sur lesquelles nous avons le plus de renseignements. L'accord n'est pas fait sur les variations de celles-ci en fonction de l'âge ou du degré d'athérosclérose. Les différences observées sont dues d'une part au mode d'expression des résultats qui se fait en fonction, soit du poids de tissu frais, du poids de tissu sec ou du poids de tissu sec délipidé. On comprend que si les lipides sont en grande quantité dans les fragments analysés, une augmentation des hexosamines dans ceux-ci, par rapport aux fragments normaux, ne sera pas mise en évidence par les deux premiers modes d'expression des résultats. D'autre part, il est possible que le taux des hexosamines varie dans un sens différent au cours des stades évolutifs de la plaque athéroscléreuse. Sur ce point seul, Derblom et Nylander étudient les stades initiaux alors qu'il n'existe que des modifications microscopiques.

L'étude des mucopolysaccharides totaux extraits de l'aorte montre que les modifications sont plus qualitatives que quantitatives. Les quantités totales extraites sont relativement constantes et s'il se produit des modifications en fonction de l'âge (Kaplan et Meyer), ou en fonction du degré d'athérosclérose (Buddecke), ces modifications portent sur le pourcentage relatif des divers constituants des mucopolysaccharides totaux. On note, dans les deux cas :

- une augmentation de l'héparitine sulfate,
- une augmentation du chondroïtine sulfate B,
- une diminution de l'acide hyaluronique.

En ce qui concerne l'incorporation du radiosulfate *in vitro*, il semble que celle-ci diminue avec l'âge et augmente en fonction du degré d'athérosclérose.

L'ensemble de ces conclusions est représenté sur le tableau I.

TABLEAU I
Modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose humaine.

Variations	Hexosamines totales		M.P.S. (*)		Total	Incorporation du ³⁵ S in-vitro	
	Age	Athérosclérose	Age	Athérosclérose		Age	Athérosclérose
Augmentation	Bertelsen (6)	Buddecke (19)			Buddecke (19)		Haus (48) Curran (23) Picard (83)
	Kanabrocki (54)						
Nulle	Kirk, Dyrbye (56)	Enselme, Frey, Henry (32) Bertelsen (6)	Berenson (4) Kaplan, Meyer (55) Böttcher (12)	Böttcher (12)			
	Noble (80)						
Diminution		Kirk et Dyrbye (56) Derblom et Nylander (24)		Berenson (4)		Haus et Coll. (48) Dyrbye (26)	

(*) Mucopolysaccharides.

II. — Modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose expérimentale

Au cours de cette étude, nous envisagerons successivement :

A. — Les modifications chimiques.

B. — Les modifications du métabolisme des mucopolysaccharides au cours de l'expérimentation par le ^{35}S en fonction de l'âge et du degré d'athérosclérose.

C. — Les modifications du métabolisme des mucopolysaccharides étudiées à l'aide du radiosulfate.

D. — L'influence des facteurs hormonaux sur l'incorporation du ^{35}S dans les mucopolysaccharides artériels.

E. — Les modifications métaboliques diverses, parallèles à l'augmentation de l'incorporation du radiosulfate lors des stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale.

A. — MODIFICATIONS CHIMIQUES.

Les travaux étudiant les modifications chimiques des constituants mucopolysaccharides dans l'athérosclérose expérimentale induite par le cholestérol, sont peu nombreux.

1. Buck et Heagy (16) déterminent la teneur en sulfate des aortes de quatre lapins normaux et de quatre lapins soumis à un régime hypercholestérolé. Il existe une augmentation de celle-ci chez les lapins rendus athéroscléreux.

2. Bollet et Coll. (9-10) extraient les mucopolysaccharides de l'aorte de lapin par la soude 0,5 N. Ils éliminent les protéines par l'acide perchlorique et précipitent finalement les mucopolysaccharides par le sulfate de protamine. Ils dosent les acides uroniques de ces derniers. La technique de dosage utilise la réaction colorée au carbazole (25). Celle-ci étant influencée par la nature du polysaccharide, les résultats sont de ce fait critiquables. Chez des lapins auxquels on donne une alimentation riche en cholestérol (un gramme par jour), pendant 34, 62 et 100 jours, ils ne trouvent pas de chan-

gement dans le contenu des acides uroniques des aortes. Ceci en dépit d'une forte hypercholestérolémie et du développement de lésions. L'augmentation n'est notée que pour des lapins au régime depuis plus de 6 mois.

Reprenant ce travail, Bollet, Wang et Adlersberg (11) comparent les résultats obtenus sur le plan chimique avec ceux obtenus sur le plan histochimique en ce qui concerne la teneur en mucopolysaccharides acides de l'aorte de lapins soumis à un régime hypercholestérolé pendant sept mois. La coloration au fer colloïdal (22) montre une augmentation des mucopolysaccharides acides dans les aortes ayant peu de lésions athéroscléreuses et non dans celles où l'on relève des lésions sévères. Les analyses chimiques (dosage des acides uroniques) ne révèlent pas l'augmentation de la concentration en mucopolysaccharides dans les lésions précoces, mais montrent une augmentation significative de ceux-ci dans les aortes athéromateuses de lapins nourris au cholestérol pendant six mois et plus. Bollet estime que les altérations des mucopolysaccharides sont secondaires à celles des lipides. Mais la technique utilisée est discutable et les résultats traduisent plus de variations qualitatives que quantitatives.

3. Utilisant la méthode de Boas (8), Buscarini (20) étudie l'évolution du taux des hexosamines aortiques, chez le lapin soumis à un régime hypercholestérolé. Les séries sont de deux lapins. L'auteur trouve une augmentation des hexosamines dans la « série » au régime depuis 50 jours : $0,14 \pm 0,05$ pour les témoins, $0,21 \pm 0,04$ pour les lapins au régime. Les résultats sont exprimés en mg pour 100 mg de tissu frais. Compte tenu du nombre de cas vraiment insuffisant : 2 par série et des variations de la teneur en eau des tissus athéroscléreux (37), les valeurs trouvées et surtout leur approximation semblent n'avoir qu'une signification critique.

B. — MODIFICATIONS DU METABOLISME DES MUCOPOLYSACCHARIDES ETUDIEES A L'AIDE DU RADIOSULFATE.

Les travaux portant sur l'incorporation du ^{35}S dans les mucopolysaccharides

polysaccharides sulfates de la paroi aortique sont beaucoup plus nombreux.

1. Buck (15) étudie l'incorporation du sulfate radioactif par le tissu artériel normal et pathologique. Les recherches sont effectuées sur 14 lapins normaux et 14 lapins soumis à un régime cholestérolé à 1 % pendant une période de trois à six mois. L'incorporation du ^{35}S est appréciée par autoradiogrammes. Des études histologiques sont faites en utilisant les colorants des mucopolysaccharides. Les auteurs notent un parallélisme entre la distribution du ^{35}S et l'intensité de la coloration métachromatique. Les lésions intimes de l'aorte incorporent le radiosulfate en plus grande quantité que n'importe quelle partie de l'intima normale. Après extraction des mucopolysaccharides, Buck et Heagy (16) confirment ceci. L'activité spécifique des mucopolysaccharides aortiques provenant de lapins traités est supérieure à celle des lapins normaux.

2. Kowalewski (60) rapporte l'augmentation de l'incorporation du ^{35}S dans les mucopolysaccharides de l'aorte de poulet soumis à un régime hypercholestérolé à 2 % pendant huit semaines. Par contre, l'incorporation dans le tissu osseux n'est pas augmentée. Cet auteur note également (61) une augmentation des hexosamines sériques chez le poulet soumis à un tel régime, confirmant les travaux de Schwartz, Peters et Day (88), qui montrent une augmentation de ces composés dans le sérum des lapins hypercholestérolémiques. Parallèlement, il existe une augmentation des substances P.A.S. positives de la paroi aortique.

3. Forman et Coll. (35) induisent une athérosclérose expérimentale chez le lapin par un régime comprenant 1 gramme de cholestérol par jour. Par autoradiographie des aortes, ils montrent que le ^{35}S se concentre dans les plaques athéromateuses. La concentration en radiosulfate du tissu artériel des animaux athéroscléreux est supérieure à celle des témoins. De même, après dialyse, le contenu en ^{35}S du sérum est trois fois supérieur chez l'animal athéroscléreux.

4. Perttala (82) nous apporte des précisions sur les stades initiaux de l'athérosclérose. En effet, il constate chez des poulets ayant un régime cholestérolé depuis six mois, une augmentation de l'in-

corporation du ^{35}S dans l'aorte, même en dehors des plaques. Ce qui, en d'autres termes, signifie que les modifications du métabolisme du soufre sont décelables avant l'apparition des lésions microscopiques.

5. Pour Gerö et Coll. (41), le dépôt des lipides est secondaire à l'altération des mucopolysaccharides. Le développement de l'athérosclérose expérimentale induite par le cholestérol n'est pas due à une filtration à travers la paroi de quantités importantes de lipides circulants. L'intervalle prolongé, qui est noté entre l'élévation précoce de la cholestérolémie et l'apparition de lésions intimes, est contre cette hypothèse. Ce temps de latence serait nécessaire pour que se développent les processus qui produisent dans la substance fondamentale artérielle les changements structuraux préalables au dépôt des lipides.

Nous avons vu, dans la première partie, les résultats des examens histologiques de ces auteurs. Ils étudient également l'incorporation du radiosulfate chez six lapins recevant un gramme de cholestérol par jour pendant cent jours, et chez six lapins témoins. Ils observent, après extraction des mucopolysaccharides, une incorporation très importante du ^{35}S dans ceux de l'aorte et du cartilage, chez les animaux au régime. L'incorporation élevée dans le cartilage est contraire aux résultats de Kowalewski. Ils notent également une augmentation des hexoses, des hexosamines et de l'acide sialique du sérum.

Gerö et Coll. (40) ont montré la formation *in vitro* de complexes entre les bêta-lipoprotéines sériques et les mucopolysaccharides extraits de l'aorte de lapins athéroscléreux. Ces complexes se forment d'ailleurs avec de nombreux polysaccharides et ont été particulièrement étudiés par Bernfeld et Coll. (5). Ainsi les modifications préalables des mucopolysaccharides favoriseraient le dépôt des lipides.

C. — MODIFICATIONS DU METABOLISME DES MUCOPOLYSACCHARIDES AU COURS DE L'EXPERIMENTATION PAR LE ^{35}S EN FONCTION DE L'AGE ET DU DEGRE D'ATHEROSCLEROSE.

Lors de l'étude de l'athérosclérose expérimentale, les auteurs

précités ne tiennent pas compte du facteur âge. Celui-ci a-t-il une influence sur l'incorporation du ^{35}S dans les sulfomucopolysaccharides ?

Hauss et Coll. (48), expérimentant sur le rat, étudient la part qui revient respectivement à ces deux facteurs. Les expériences d'incorporation du ^{35}S dans les mucopolysaccharides sont menées *in vivo* et *in vitro*.

1. Influence de l'âge :

L'incorporation du radiosulfate dans les acides chondroïtine sulfuriques du cœur et de l'aorte est beaucoup plus élevée chez les rats âgés de six mois que chez les rats d'un an. La demi-vie biologique du ^{35}S est augmentée chez le rat âgé.

Les mêmes résultats sont trouvés par Picard et Coll. (84) lors de l'étude de l'incorporation du ^{35}S dans les nucléotides sulfates et les mucopolysaccharides sulfates de l'aorte du rat en fonction de l'âge.

2. Influence d'un régime athérogène :

Hauss et Coll. insistent sur les faits précédents pour soutenir que les processus pathologiques observés dans l'athérosclérose ne sont pas une conséquence de l'âge. Ces auteurs constatent que quatre semaines après le début d'un traitement athérogène, l'incorporation du ^{35}S dans les acides chondroïtine-sulfuriques de l'aorte et des autres organes est doublée. Il n'existe pas, à ce stade, de modifications pathologiques sur le plan histologique. Deux semaines plus tard, les aortes présentent des altérations athéroscléreuses. L'incorporation du ^{35}S est encore élevée mais inférieure à celle obtenue après quatre semaines de régime.

Contrairement aux autres auteurs, Hauss pense que cette élévation de l'incorporation du ^{35}S sous l'influence d'un régime riche en cholestérol, se produit dans les autres tissus mésenchymateux (47) et fait partie d'une « réaction universelle et non spécifique du mésenchyme », qui peut être produite par différents agents tels que les endotoxines bactériennes, l'hypoxie, les radiations, le manque d'exercice, l'augmentation des lipides dans la ration alimentaire. Le résultat de ces expériences est un argument en faveur

de la théorie suivant laquelle l'athérosclérose est un état pathologique induit par un certain nombre d'agressions externes.

D. — INFLUENCE DES FACTEURS HORMONAUX SUR L'INCORPORATION DU ^{35}S DANS LES MUCOPOLYSACCHARIDES ARTERIELS.

Les divers agents hormonaux qui influent sur l'évolution de l'athérosclérose expérimentale agissent également sur l'incorporation du radiosulfate.

1. *Thyroxine, antithyroïdiens :*

De petites doses de Thyroxine intensifient l'incorporation de ^{35}S chez le poulet rendu athéroscléreux, comme l'indique Perttala (82), bien que cet agent soit hypocholestérolémiant. Il en est de même chez le lapin normal, chez lequel Lorenzen (72) constate en outre une augmentation des hexosamines du tissu de connexion de la paroi aortique.

De petites quantités de Thiouracile agissent dans le même sens (82).

2. *Corticostéroïdes, « Adrenocorticotrophin hormon » (A.C.T.H.) :*

Crane (21) relève que les artères mésentériques incorporent une plus grande quantité de ^{35}S chez le rat hypertendu sous l'effet de la désoxycorticostérone.

Hilz et Uterman (50) produisent des lésions d'athérosclérose chez le rat par administration continue d'A.C.T.H. Alors qu'apparaissent les premières lésions, l'incorporation du radiosulfate dans l'aorte augmente.

3. *Œstrogènes, Androgènes :*

La testostérone *in vitro* accroît l'incorporation du ^{35}S dans les mucopolysaccharides de l'aorte du rat et stimule la respiration. On observe les effets contraires avec l'œstradiol (50).

E. — MODIFICATIONS METABOLIQUES DIVERSES
PARALLELES A L'AUGMENTATION DE L'INCORPORATION
DU RADIOSULFATE LORS DES STADES INITIAUX DE L'ATHEROSCLEROSE EXPERIMENTALE.

a) L'augmentation initiale de la respiration du tissu aortique, sous l'action de divers agents athérosclérogènes, est montrée par de nombreux auteurs.

1° Hilz et Uterman (50) montrent que la consommation d'oxygène varie dans le même sens que l'incorporation du ^{35}S lors de l'apparition des premières lésions chez le rat.

2° Loomer et Ostendorf (71) reconnaissent une augmentation de la consommation d'oxygène dans l'aorte thoracique des rats hypercholestérolémiques.

3° Munro (79) pense que cette augmentation de la respiration des tissus athéroscléreux semble être un fait initial qui disparaît quand la sclérose prédomine. Elle est fonction de la résistance de l'espèce animale à l'athérosclérose. Chez le poulet, beaucoup moins résistant que le rat, il y a une diminution de la consommation d'oxygène.

4° Whereat (95) compare le métabolisme de l'aorte chez des lapins athéroscléreux en envisageant la consommation d'oxygène à différents niveaux de cet organe. Seule la couche interne de l'aorte est utilisée. Cette couche est constituée de l'intima et d'une partie de la média. Chez le lapin soumis à un régime hypercholestérolé, la consommation d'oxygène est supérieure à celle des témoins. Il étudie, d'autre part, les parties le plus athéroscléreuses (crosse aortique). Ces zones montrent une consommation d'oxygène supérieure aux autres. Pour cet auteur, ceci est dû probablement à une demande d'énergie supplémentaire ou à un découplage de la phosphorylation oxydative.

b) Modifications enzymatiques diverses :

Arai et Iwasaki (2) induisent chez le lapin une athérosclérose

par administration d'acide pyruvique. Cette surcharge provoque un trouble du cycle citrique équivalent à une avitaminose B₁. Les stades initiaux sont caractérisés par la dégénérescence des fibres élastiques et l'accumulation de polysaccharides s'accompagnant d'un gonflement œdémateux. Parallèlement, il existe une augmentation de l'activité enzymatique en ce qui concerne la succino-deshydrogénase, la Fumarase et la Pyruvique-deshydrogénase. Dans un deuxième temps, avec l'accumulation de polysaccharides et l'apparition de la sclérose, les activités enzymatiques régressent.

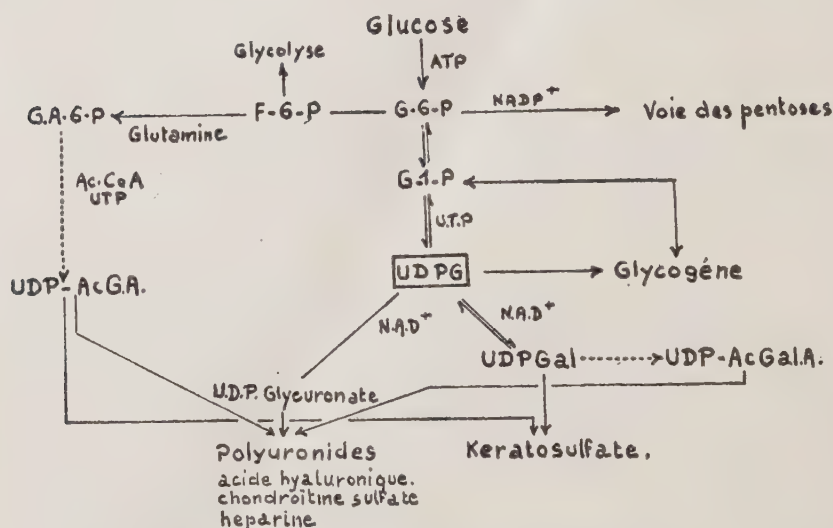
Pour les auteurs, ce fait est l'expression d'une réaction vitale qui a pour rôle de dégrader le taux graduellement croissant de l'acide pyruvique et des produits de son métabolisme intermédiaire. Ceux-ci, ne pouvant être résorbés par l'intermédiaire des processus d'oxydation, sont utilisés à la synthèse des polysaccharides.

Ceci concorde avec les vues de Hilz (49), qui considère que l'accumulation de glucose, conséquence d'une diminution des activités enzymatiques de la glycolyse, du cycle citrique et de la voie des pentoses, favorise l'utilisation de cet ose pour la synthèse des polysaccharides (voir tableau II). Ces diverses activités enzymatiques sont étudiées par Zemlenyi (98) dans une revue générale sur les enzymes de la paroi vasculaire.

La synthèse des mucopolysaccharides est favorisée par une activité accrue de l'uridine-diphospho-glucose (U.D.P.G.) pyrophosphorylase, comme l'indiquent Kittinger et Coll. (59). Dans le foie, l'U.D.P.G. est le matériel de départ pour la synthèse du glycogène ; il l'est aussi pour la synthèse des polysaccharides. Comme dans le tissu conjonctif, la production de glycogène est très faible, une augmentation de la concentration en U.D.P.G. sera suivie par une augmentation de la production des mucopolysaccharides.

Pour Mandel (55), le métabolisme du glucose au cours de la glycolyse anaérobie étant beaucoup plus important que par voie aérobie, la synthèse de composés riches en énergie : Adénosine-tri-phosphate, Guanosine-tri-phosphate, Uridine-tri-phosphate, est lente. Les processus de sénescence provoquant la diminution de ces sources d'énergie, dont la paroi artérielle est déjà pauvre, ceci a pour conséquence la diminution de la synthèse protéique. L'équilibre entre protéines et mucopolysaccharides étant rompu, il en

résulte une libération de groupements acides libres de grande affinité pour les lipoprotéines.



G.A. : Glucosamine

Gal. : Galactose

NAD. : Nicotine-Adénine-Dinucléotide.

N.A.D.P. : Nicotine-Adénine-Dinucléotide-Phosphate.

Gal.A. : Galactosamine

UDPG : Uridine diphosphoglucose

TABLERAU II: Métabolisme Pathologique des Polysaccharides acides à partir du Glucose, d'après HILZ (49)

Lors de l'athérosclérose induite par le cholestérol chez le lapin (1 gramme par jour), Mrhova, Zemplenyi et Coll. (78) constatent que, parallèlement à une augmentation des hexosamines sériques, il se produit au bout de quatre semaines de régime une augmentation d'activité de la β -glucuronidase. Cette activité persiste, bien qu'à un degré moindre, au bout de dix semaines. Il n'y a pas, au bout de quatre semaines de modifications histologiquement décelables de l'aorte. Ces mêmes auteurs (99) notent également une augmentation d'activité de la phosphomonoestérase I (phosphatase alcaline). Bien que ces vues soient contestées, cet enzyme aurait un rôle dans la calcification et la formation des fibres collagènes. L'activité accrue des enzymes impliqués dans le métabolisme des mucopolysaccharides associés à l'incorporation accélérée du ^{35}S , suggèrent à ces auteurs qu'il existe des réactions très précoces de la substance fondamentale même dans l'athérosclérose induite par le cholestérol. En

accord avec la théorie de Hueper (51), les échanges gazeux intimaux seraient troublés par la formation d'un film colloïdal du cholestérol. Les processus métaboliques des mucopolysaccharides de la substance fondamentale, de ce fait, seraient perturbés. Ces hypothèses sont confirmées par les études de Krompecher et Coll. (62), qui considèrent qu'une déficience en oxygène peut être un facteur responsable de l'accumulation des mucopolysaccharides tissulaires.

Est-ce par l'intermédiaire d'un tel processus qu'il y a diminution des lésions chez le lapin soumis à un régime hypercholestérolé, et mis par séance de deux à six heures sous tente à oxygène (68) ?

De cette étude concernant les modifications des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose expérimentale, il ressort que :

— Les travaux chimiques analysant les constituants des mucopolysaccharides sont peu nombreux. L'accord n'est pas fait sur le sens des modifications dans les stades initiaux.

— L'augmentation de l'incorporation du radiosulfate dans les stades initiaux de l'athérosclérose induite par le cholestérol est un fait acquis.

— Les processus athéroscléreux sont différents des processus de sénescence.

— Les facteurs hormonaux, qui ont un rôle connu dans l'athérosclérose, induisent des modifications dans l'incorporation du ^{35}S dans les sulfomucopolysaccharides de la paroi.

— Les activités enzymatiques diverses semblent orientées vers la synthèse des mucopolysaccharides lors des stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale. Nous n'avons cependant pas assez de travaux pour juger de la valeur de cette information.

Que ce soit dans l'athérosclérose humaine ou expérimentale, on peut constater qu'un nombre d'auteurs de plus en plus grand considèrent qu'une réaction précoce de la substance fondamentale du tissu de connection de la paroi vasculaire précède le dépôt des lipides. Ces modifications seraient la conséquence de diverses agressions. Dans le cas de l'athérosclérose expérimentale, induite par le cholestérol, l'anoxie des couches intimes et sous-intimes, dont la nutrition n'est pas assurée par les vasa vasorum, serait le facteur déclenchant.

CHAPITRE III

TECHNIQUE ET RESULTATS PERSONNELS

I. — Généralités

Notre but étant d'étudier les stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale, induite par l'ingestion de cholestérol chez le lapin, il sera nécessaire de faire cette analyse sur des aortes ne présentant pas encore de lésions macroscopiques.

Les faibles quantités de tissu aortique ne nous permettent pas une séparation des mucopolysaccharides. Aussi, nous étudierons l'évolution des pourcentages relatifs de glucosamine et galactosamine, qui nous permettra de nous rendre compte des variations des composés ci-après :

- Série de la glucosamine :
 - Acide hyaluronique,
 - Kérato sulfate,
 - Héparitine sulfate,
 - Mucopolysaccharides neutres.
- Série de la galactosamine :
 - Chondroïtine sulfate A,
 - Chondroïtine sulfate B,
 - Chondroïtine sulfate C.

Parallèlement, nous étudierons l'évolution des hexosamines sériques.

II. — Protocole expérimental

1° Préparation des animaux.

Nous utilisons des lapins pesant deux à trois kilos. Avant leur mise en expérience, ces lapins sont soumis pendant trois semaines à un régime standard, qui est administré à raison de cent grammes par animal et par jour et qui est constitué par :

- Orge, Avoine,
- Mélasse,
- Remoulage et germes de blé,
- Farine de luzerne déshydratée,
- Tourteaux de soja, arachides, palmistes et lin,
- Composé minéral vitaminé (A et D)*.

Ces animaux vivent dans des cages individuelles dont le plancher est constitué par un grillage laissant passer les excréments, ce qui empêche toute coprophagie.

Les analyses portent sur trois séries de six lapins :

a) Une série de lapins normaux, vivant dans les conditions de laboratoire et nourrie avec le régime ci-dessus.

b) Une série recevant un gramme de cholestérol par jour pendant un mois.

c) Une série recevant un gramme de cholestérol par jour pendant deux mois.

Les animaux des deux dernières séries reçoivent, en outre, cent grammes du régime standard.

Le cholestérol est administré dans un mélange destiné à faciliter son ingestion et qui comprend :

- Cholestérol : 1 gramme.
- Huile d'olive : 3 grammes.
- Caséine : 10 grammes.

(*) Ces constituants sont ceux indiqués pour la provende C17 des établissements Pietremont.

Ce mélange est bien supporté par les animaux, qui l'absorbent d'ailleurs très rapidement dès qu'il leur est présenté.

2° *Sacrifice de l'animal, préparation de l'aorte.*

Avant de sacrifier les lapins par rupture de la colonne cervicale, on prélève environ vingt millilitres de sang par ponction intracardiaque.

L'aorte est prélevée depuis les valvules sigmoïdes jusqu'à sa bifurcation abdominale. Lors de la dissection, une rupture se produit souvent au départ des artères rénales. L'aorte est ouverte longitudinalement. Il est procédé à une estimation macroscopique du degré de l'athérosclérose aortique.

Après un lavage à l'eau courante pour éliminer le sang et un dégraissage grossier de l'adventice, les aortes sont conservées à — 25°, dans des tubes bouchés.

La finesse des aortes pose un problème quant à leur dissection en adventice d'une part, et tunique interne d'autre part. Après une ou deux congélations et décongélations de — 25° à + 4°, il est alors possible de trouver plus facilement un plan de clivage.

3° *Déshydratation et délipidation.*

Les fragments intimaux aortiques sont laissés quelques heures dans l'acétone. L'acétone est éliminée par passage à l'étuve. On obtient ainsi de soixante à cent milligrammes de tissu sec.

La totalité du tissu aortique est broyée* dans dix à quinze millilitres d'acétone pendant deux minutes.

On recueille la totalité du fin broyat, qui est laissé dans le mélange chloroforme-méthanol (2/1) quatre à cinq heures. On filtre sur verre fritté. Le tissu broyé est séché à l'éther et ensuite à l'étuve.

(*) Nous avons utilisé l'homogénéiseur Biorex, des Etablissements « Equipements Industriels », Paris.

4° Hydrolyse du tissu aortique.

— Une cinétique d'hydrolyse de tissu aortique et le dosage des hexosamines suivant la méthode de Rimington, décrite par Winzler (96), nous a montré que la libération des hexosamines était maximum au bout de deux heures, avec l'acide chlorhydrique 4 N en tube scellé à l'étuve à 110°. La courbe est en plateau jusqu'à la sixième heure.

— On prélève cinquante à soixante-dix milligrammes de tissu broyé que l'on introduit dans une ampoule de cinq millilitres, avec quatre millilitres d'acide chlorhydrique 4 N. L'ampoule étant scellée, on procède à l'hydrolyse pendant quatre heures à 110°.

Après refroidissement, l'ampoule est transvasée quantitativement dans un petit becher. On rince deux ou trois fois.

— L'hydrolysate est desséché sous vide sur silica-gel et soude. Cette opération nécessite une quinzaine d'heures environ.

5° Séparation des glucosamines et des galactosamines.

La séparation se fait sur résine échangeuse d'ions (DOWEX 50 × 8, 200 - 400 mesh). Les hexosamines sont entraînées par l'acide chlorhydrique 0,3 N. Pour avoir une bonne séparation, le débit doit être lent. Les glucosamines s'éluent les premières, en second viennent les galactosamines.

— Nous utilisons la technique de Gardell (38), que nous avons légèrement modifiée pour les besoins de notre expérimentation.

a) Matériel.

— Colonne à chromatographie (50 × 0,5 cm).

— Réservoir constitué par une ampoule à brome, relié à l'extrémité de la colonne par un tube souple.

— DOWEX 50 × 8, 200-400 mesh lavée avec, dans l'ordre : soude 2 N, acide chlorhydrique 2 N, eau distillée de façon à

obtenir un filtrat clair. La résine est conservée dans l'acide chlorhydrique 4 N. Pour l'usage, celle-ci est préalablement débarrassée de l'acide chlorhydrique 4 N et remise en suspension dans l'acide chlorhydrique 0,3 N.

— Après avoir mis au fond de la colonne un tampon de laine de verre, on remplit celle-ci sur une hauteur de quarante-cinq à cinquante centimètres avec de la résine, en exerçant une pression. La colonne est branchée sur le réservoir et on lave avec l'acide chlorhydrique 0,3 N pendant une dizaine d'heures.

b) Dépôt de l'hydrolysât.

L'hydrolysât desséché est remis en solution dans un millilitre d'acide chlorhydrique 0,3 N. A l'aide d'une pipette à écoulement total d'un millilitre, graduée au centième, on dispose 0,8 à 0,9 millilitre de l'hydrolysât au sommet de la colonne en laissant d'abord l'acide chlorhydrique 0,3 N s'écouler, de façon à ce qu'il affleure au niveau supérieur de la colonne. On laisse s'écouler de même l'hydrolysât. On rince les parois avec quelques dixièmes de millilitre d'acide chlorhydrique 0,3 N. On branche le réservoir et on règle sa hauteur de façon à ce que le débit soit compris entre 1,5 et 2 millilitres à l'heure.

L'éluat est recueilli en fraction de un millilitre grâce à une collectrice de fraction. On obtient cette quantité avec une erreur ne dépassant pas 5 %.

6° Dosages des hexosamines dans les fractions éluées.

a) Réactifs.

— Solution standard de chlorhydrate de glucosamine (50 milligrammes par litre). Des échantillons de un millilitre contenant 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 et 1 millilitre de cette solution servent de gamme-étalon.

— Acétylacétone : 1,5 millilitre d'acétylacétone incolore est dissout dans cinquante millilitres de carbonate de sodium 1,25 N. Cette solution est préparée extemporanément.

— Réactif d'Ehrlich : on met en solution 1,6 gramme de paradiméthylaminobenzaldéhyde dans trente millilitres d'acide chlorhydrique concentré et trente millilitres d'alcool à 96°. La solution obtenue doit être jaune clair.

b) *Technique.*

A chaque tube retiré de la collectrice de fraction, ainsi qu'à la gamme-étalon, on ajoute un millilitre du réactif acétylacétone. On agite soigneusement. Les tubes sont bouchés avec des billes de verre et mis au bain-marie à 96° pendant vingt minutes. Ce temps d'acétylation est suffisant pour les faibles quantités d'hexosamines contenues dans chaque tube. Celles-ci sont présentes après que cinquante millilitres se soient écoulés de la colonne. Après refroidissement des tubes, on ajoute cinq millilitres d'alcool à 96° et un millilitre de réactif d'Ehrlich. Le mélange est effectué en soufflant dans la solution avec un tube capillaire. Trois quarts d'heure à une heure plus tard, on lit les colorations au spectrophotomètre à 535 m^μ. Quelques tubes ne contenant pas d'hexosamine sont pris comme témoins. L'intensité de la coloration obtenue est la même pour la glucosamine et la galactosamine à quantités égales.

7° *Dosage des hexosamines sériques.*

Ce dosage est effectué sur le sérum préparé à partir du sang obtenu par ponction intra-cardiaque. La technique utilisée est décrite par Winzler (96).

III. — Résultats

1° *Examen macroscopique des aortes.*

Les aortes sont prélevées immédiatement après le sacrifice des lapins. Elles sont ouvertes longitudinalement pour permettre l'examen macroscopique des modifications intimes. Chez les cinq lapins de la série témoin, l'intima présente un aspect lisse, sans les surélévations caractérisant le dépôt des lipides. Chez les lapins nourris au régime hypercholestérolé depuis un mois, on note à

l'autopsie une lipoïdose abondante au niveau des différents organes et en particulier autour de l'aorte. Celle-ci présente par contre, chez les six lapins de la série, une surface intimale sans modifications.

Dans la série au régime depuis deux mois, il n'en est pas de même. Chez deux lapins, on relève des altérations intimales. Au niveau de la crosse aortique, chez le premier, on note deux petites plaques en relief sur l'intima, avec en plus, chez le second, quelques traînées lipidiques fusiformes sur l'aorte thoracique.

Il semble bien que, dans les conditions de régime où nous nous sommes placés, deux mois au minimum soient nécessaires à la formation de lésions athéroscléreuses.

Notre but étant d'étudier les modifications du taux des hexosamines de la tunique interne de la paroi aortique avant le dépôt des lipides et la présence de lésions visibles macroscopiquement, ces conditions semblent remplies.

2° *Hexosamines sériques.*

Nous avons l'intention, dans un premier temps, de suivre les variations sériques du taux des hexosamines en effectuant des ponctions cardiaques chez les lapins au régime hypercholestérolé, à des intervalles de huit jours. Un premier inconvénient est le risque de mort par hémopéricarde, accident qui survient parfois après les ponctions. Le second est que la répétition d'une lésion cardiaque traumatique peut se traduire, sur le plan sérique, par une augmentation des α_1 glucoprotéines (30), ce qui fausserait les résultats du dosage des hexosamines.

Dans le groupe des lapins normaux, il convient de considérer deux sous-groupes. Le premier, N₁, fait partie du même lot que les lapins soumis au régime hypercholestérolé. Les dosages ont été effectués environ au bout d'un mois de vie au laboratoire. L'autre groupe, N₂, est constitué par de gros lapins albinos, vivant en cage depuis plus de neuf mois. Bien qu'il s'agisse de lapins normaux, ce groupe ne présente pas la même homogénéité que le groupe N₁. Il n'est pas possible de comparer sur un plan statistique ces deux séries et de donner une signification à la différence des moyennes.

Il est possible que l'âge ou les conditions de vie influent sur les hexosamines sériques du lapin. Une étude sur l'influence de ces facteurs serait intéressante.

Nous avons réuni les deux séries de lapins, N₁ et N₂ : nous obtenons une moyenne de 98,5 milligrammes par cent millilitres de sérum, avec un écart-type de $\pm 17,5$. Ces résultats, ainsi que ceux obtenus pour les lapins soumis au régime hypercholestérolé, sont exprimés dans le tableau III.

TABLEAU III
Hexosamines sériques.

Série	N1	N2	N1 + N2	A	B
Lapins	normaux 1 mois	normaux 9 mois	normaux	1 mois de régime	2 mois de régime
Valeurs trouvées mg/100 ml de sérum	87,5	104		146	133
	87,5	75		125	158
		116		92	117
	92	96		92	108
	75	116		104	108
	92	120		96	117
	91	129			
Moyennes	87,5	108	98,5	109	123,5
Ecart type	$\pm 6,5$	$\pm 18,1$	$\pm 17,5$	± 22	± 19

Nous avons appliqué le test « t » de Student-Fisher (67) à la comparaison des différentes moyennes. Celui-ci nous permet de dire qu'il y a une probabilité d'erreur de 1 % ($P = 0,01$) pour que nous nous trompions en affirmant qu'il existe une différence significative entre les séries normales (moyenne, 98,5 ; écart-type, $\pm 17,5$) et la série B au régime hypercholestérolé depuis deux mois (moyenne, 123 ; écart-type, ± 19). Les différences entre les écarts-type des autres séries sont trop importantes pour qu'il nous soit possible de les comparer.

Il y aurait donc une augmentation des hexosamines sériques chez le lapin soumis à un régime hypercholestérolé au bout de deux mois. Nous ne pouvons conclure, pour la série A (un mois de régime) : un nombre supplémentaire de cas serait nécessaire.

3° *Hexosamines de la tunique interne de la paroi aortique.*

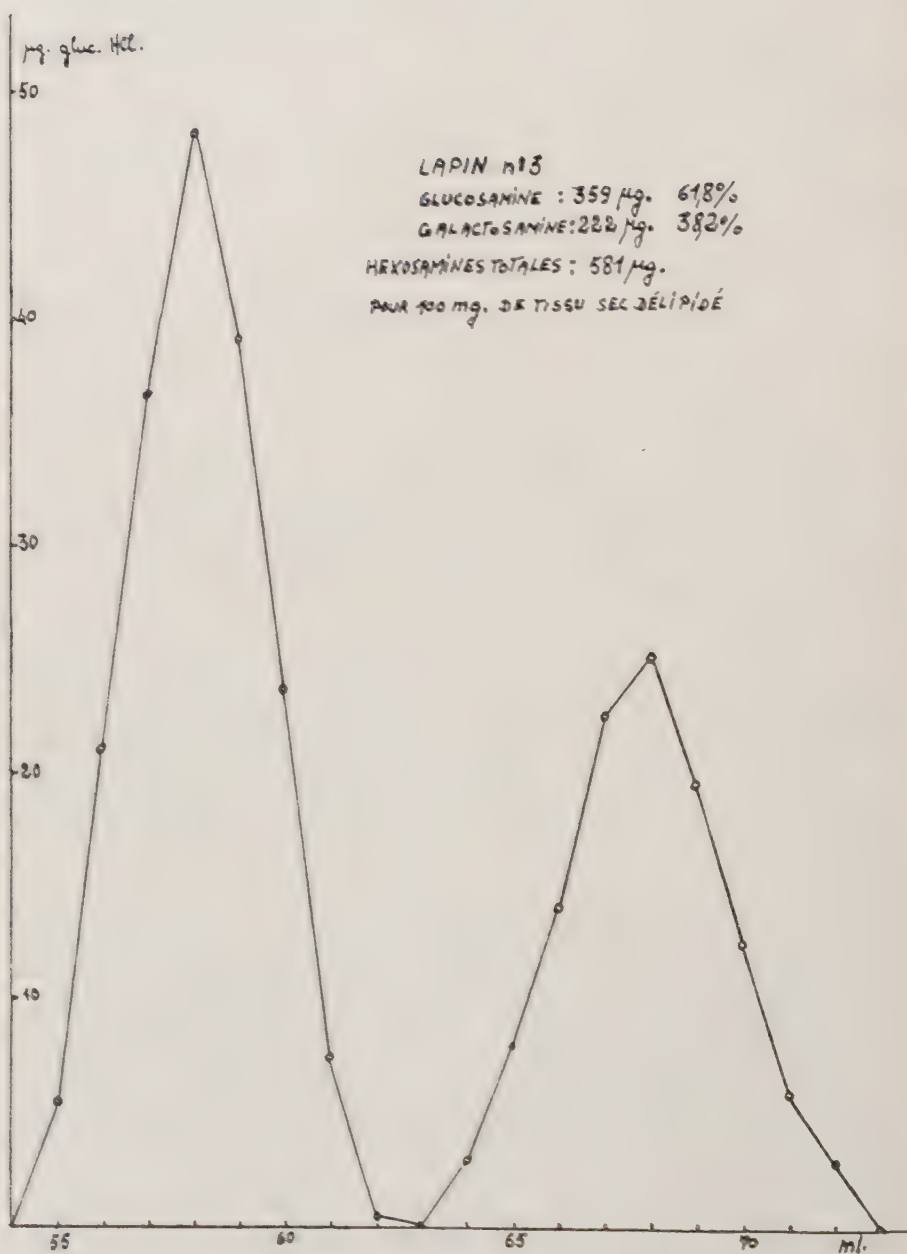
Après séparation sur colonne et déterminations quantitatives, nous obtenons :

- Le taux des hexosamines totales de la paroi aortique.
- Le taux de glucosamine.
- Le taux de galactosamine.
- Le pourcentage relatif de ces deux constituants.

Nous avons représenté, sur la courbe I, le résultat de l'un de nos essais. En ordonnée, sont indiquées les quantités d'hexosamines (microgrammes de chlorhydrate de glucosamine), en abscisse le numéro correspondant des tubes. Le premier pic représente la glucosamine, le second la galactosamine.

Les quantités dosées dans chaque tube sont additionnées. On obtient ainsi les valeurs respectives de glucosamine et de galactosamine. La séparation est toujours bonne et les hexosamines se répartissent sur une vingtaine de tubes si l'on respecte les conditions de débit. Celui-ci ne doit pas dépasser la valeur de deux millilitres à l'heure.

Nous avons exprimé les résultats finaux en microgrammes d'hexosamines pour cent milligrammes de tissu aortique sec et délipidé. Seul ce mode d'expression, à notre avis, peut éliminer d'autres paramètres, tels que la teneur en eau et en lipides des tissus, qui pourraient modifier les résultats. Ceci n'a pas de très grosse importance dans notre étude, car il n'existe pas de lésions macroscopiques ni de variations importantes de la teneur en lipides (3). Frey (37) en effet, a montré qu'il y a une diminution de la teneur en eau du tissu aortique athéroscléreux. Si d'autre part, les lipides sont en proportions importantes, le pourcentage relatif de tissu non lipidique sur lequel portera le dosage des hexosamines, sera inférieur dans les fragments athéroscléreux, et fera croire à une diminution de ces dernières.



COURBE I.

Les résultats que nous avons obtenus sont rassemblés dans le tableau IV. Etant donné la dispersion des résultats, on ne peut pas conclure d'une façon formelle. Ces variations sont dues, peut-être, aux réactions individuelles différentes au régime cholestérolé. Il serait peut-être utile d'expérimenter sur des lapins provenant d'une même lignée.

TABLEAU IV

SÉRIE		Hexosamines totales	Glucosamine	% gl.	Galactosamine	% gal.
N Lapins normaux	Valeurs trouvées	662	384	58	278	42
		587	350	59,6	237	40,4
		634	366	57,7	268	42,3
		508	312	61,3	196	38,7
		750	423	56,4	327	43,6
	Moyenne	628	367	58,6	261	41,4
	Ecart type	± 89	± 41	± 1,9	± 52	± 1,9
A 1 mois de régime	Valeurs trouvées	483	300	62,2	183	37,8
		414	327	79	87	21
		490	337	68,8	153	31,2
		664	378	57	286	43
		598	330	55,2	268	44,8
	Moyenne	529	334	64,4	195	35,6
	Ecart type	± 100	± 24	± 9,7	± 82	± 9,7
B 2 mois de régime	Valeurs trouvées	560	364	65	196	35
		644	361	56	283	44
		687	458	66,6	229	33,3
		525,5	348	66,3	177,5	33,7
		581	359	61,8	222	38,2
		714	438	61,3	276	39,7
	Ecart type	619	388	62,8	231	37,2
	Moyenne	± 75	± 47,3	± 4	± 42,3	± 4

Les résultats sont exprimés en microgrammes par 100 mg de tissu sec délipidé.

Nous ne trouvons de variations statistiquement significatives que pour la glucosamine. Mais il semble en exister d'autres.

Nous envisagerons successivement les modifications :

- des hexosamines totales,
- des glucosamines,
- des galactosamines,
- du pourcentage relatif de glucosamine et de galactosamine.

a) *Hexosamines totales.*

Dans chaque série, les écarts individuels sont assez grands. Il semble cependant qu'il y ait au cours du premier mois une diminution des hexosamines totales dont le taux remonte au cours du deuxième mois de régime. Le test « t » ne donne cependant pas de réponse significative. En effet, pour qu'une différence entre deux séries ait une valeur dans une étude biologique, il faut que le test « t » nous donne une probabilité d'erreur inférieure à 5 % ($P < 0,05$.) Or, elle n'atteint pas ce niveau.

b) *Glucosamine.*

Le test « t » nous montre ici une différence significative entre les moyennes de la teneur en glucosamine des aortes de lapins au régime hypercholestérolé depuis deux mois (série B) et ceux sacrifiés après un mois de régime (série A). La probabilité d'erreur P est comprise entre 0,05 et 0,02.

c) *Galactosamine.*

A la fin du premier mois de régime hypercholestérolé (série A), il semble exister une diminution de la teneur en galactosamine.

d) *Pourcentages relatifs de glucosamine et de galactosamine.*

Il semble que se produise une augmentation relative de la teneur en glucosamine de la tunique interne de la paroi aortique. Si l'on compare la série témoin et la série au bout de deux mois de régime, le test « t » ne nous donne qu'une valeur de P comprise entre 0,05 et 0,1 insuffisante pour que les différences observées soient significatives.

IV. — Discussion

Alors qu'il n'existe pas de modifications macroscopiques de l'intima, il se produit chez les lapins soumis à un régime hypercholestérolé pendant un ou deux mois des modifications du taux des hexosamines de la paroi aortique.

Nous venons de voir quelles sont ces diverses variations. Sur un plan plus synthétique, il semble qu'il y ait d'abord une chute des hexosamines totales portant plus sur la galactosamine que sur la glucosamine. Au cours du deuxième mois, il y a une augmentation plus particulièrement de la glucosamine.

Bien avant que les aortes présentent des lésions macroscopiques, l'organisme du lapin est le lieu d'importants dépôts de lipides. Beaumont et Coll. (3) ont montré que le comportement des divers organes du lapin soumis à un régime cholestérolé à 1 % est différent. Les uns (sang, foie, rate et surrénales), se chargent d'abord très rapidement en cholestérol, si bien que pendant le premier mois, leur teneur triple. L'aorte, la sclérotique, le tendon et la cornée se chargent lentement d'abord, l'augmentation étant minime au cours du premier mois, celle-ci s'accéléralant par la suite. D'autre part, la teneur en cholestérol de l'aorte est proportionnelle au degré des lésions macroscopiques. Alors qu'il se produit un retour à la normale du taux de cholestérol de la première catégorie d'organes, après cessation du régime hypercholestérolé, il n'en est pas de même dans l'aorte, où l'augmentation semble persister.

Dans le foie, la rate et les surrénales, il s'agit probablement d'une infiltration passive. Dans l'aorte le phénomène serait différent et l'augmentation des lipides qui survient au bout de deux mois et plus, fait certainement suite à des modifications induites dans le tissu conjonctivo-histiocytaire qui est commun aux organes qui ont un comportement similaire à celui de l'aorte.

L'étude de ce tissu de connection, dont la formation est provoquée par l'implantation sous la peau d'éponges en matière plastique, montre à Boucek et Coll. (13) que celui-ci a les mêmes réactions vis-à-vis d'une hypercholestérolémie. L'injection d'oestrogènes empêche l'infiltration en cholestérol de ce tissu. D'autre part, la réponse à l'hypercholestérolémie est beaucoup plus importante dans le tissu de connection nouvellement formé.

Nous croyons que sous l'influence d'une agression, qui dans le cas de l'athérosclérose expérimentale est représentée par une hypercholestérolémie importante, il se produit dans la substance fondamentale du tissu de connection des remaniements qui aboutissent à la formation de tissu jeune. Quant à l'augmentation du cholestérol dans celui-ci, il peut être dû, soit à une augmentation des processus synthétiques, soit à l'affinité des β globulines pour les mucopolysaccharides nouvellement formés.

Quels sont les résultats de notre travail expérimental qui nous permettent de penser que nous sommes en présence de remaniements aboutissant à la formation de tissu conjonctif jeune ?

Un élément de comparaison nous est fourni par Boucek, étudiant la formation du tissu de connection dans les conditions expérimentales précédemment citées. Jusqu'au neuvième jour, seule est présente la glucosamine. L'apparition de la galactosamine survient par la suite, accompagnée d'une diminution du collagène soluble dans l'acide acétique. Cette diminution serait due à l'influence stabilisatrice du chondroïtine sulfate sur le collagène avec lequel il forme des complexes. Or nous notons dans l'aorte à la fin du premier mois une chute des hexosamines totales portant principalement sur la galactosamine. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Derblom et Nylander (24). Cette diminution de la galactosamine impliquerait ainsi des troubles dans la stabilité des protéines fibrillaires de la trame conjonctive (collagène, élastine). A la fin du deuxième mois, on note une augmentation significative de la glucosamine, en comparaison des taux obtenus à la fin du premier mois. Ce phénomène pourrait être la traduction d'une synthèse de mucopolysaccharides et de la formation de tissu conjonctif jeune.

— Boucek montre également que l'influence de l'âge et du sexe sur la synthèse des éléments du tissu de connection est importante. L'action de ces deux facteurs sur la teneur en glucosamines et en galactosamines de la paroi aortique serait à préciser.

Il serait intéressant d'étudier les modifications initiales des hexosamines dans l'athérosclérose expérimentale induite par les complexes acétiques du cholestérol (33). Le facteur irritatif intervient ici plus que le cholestérol et les modifications de la substance fondamentale et des mucopolysaccharides doivent certainement être importantes.

CONCLUSIONS

- I. — Les travaux chimiques sur les modifications des mucopolysaccharides de la paroi aortique dans les stades initiaux de l'athérosclérose humaine ou expérimentale, bien qu'ils montrent l'importance de ces composés, ne sont pas en accord.
 - Les divergences portant aussi bien sur les variations de la teneur en hexosamines totales, en sulfate et sur les mucopolysaccharides totaux extraits de la paroi artérielle.
 - Il n'existe pas assez de travaux pour permettre de connaître les variations relatives des divers mucopolysaccharides.
 - La distinction de la part qui revient à la sénescence de celle qui revient à l'athérosclérose dans ces modifications n'est pas établie clairement.
 - Les études par le radiosulfate montrent une augmentation initiale des processus métaboliques concernant les mucopolysaccharides dans l'athérosclérose.

- II. — Nous avons étudié les modifications des hexosamines de la tunique interne de la paroi aortique lors des stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale induite par le cholestérol (un gramme par jour) chez le lapin.
 - La séparation et le dosage quantitatif des glucosamines et des galactosamines est effectuée après passage sur colonne de Dowex 50.
 - Les hexosamines sériques sont dosées parallèlement.

III. — Alors qu'il n'existe pas de modifications macroscopiques de l'intima aortique, il semble exister à la fin du premier mois de régime une diminution des hexosamines totales portant principalement sur la galactosamine.

- Il existe une augmentation significative de la teneur en glucosamine de la paroi aortique des lapins à la fin du deuxième mois, comparée aux valeurs obtenues à la fin du premier mois.
- Chez le lapin au régime hypercholestérolé depuis deux mois le taux des hexosamines sériques est augmenté significativement.
- Ces modifications des constituants des mucopolysaccharides de la substance fondamentale du tissu de connection traduirait la formation de tissu conjonctif jeune présentant une grande affinité pour les lipides.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,

Lyon, le 22 novembre 1963.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université :

P. LOUIS.

VU, le Doyen :

J.-F. CIER.

Le Président de Thèse :

J. ENSELME.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADLERSBERG (D.), WANG (C.-I.) and STRAUSS (L.). — The role of the ground substance in atherogenesis. *J. Mt. Sinai Hosp.*, 1957, 24, 655.
2. ARAI (T.) and IWASAKI (I.). — Studies on the experimental production of arteriosclerosis by the disturbance of the T.C.A. cycle (Krebs). *Acta Path. Jap.*, 1962, 12, 91.
3. BEAUMONT (J.-L.), GROSGOGÉAT (Y.), RICHARD (J.-L.) et CLAUDE (J.-R.). — La teneur en cholestérol de l'aorte et d'autres organes chez le lapin nourri avec du cholestérol. *J. Athéroscler. Res.*, 1963, 3,
4. BERENSON (G.-S.). — Studies of « ground substance » of the vessel wall and alterations in atherosclerosis and related diseases. *J. Atheroscler. Res.*, 1961, 1, 386.
5. BERNFELD (P.), NISSELBAUM (J.-S.), BERKELEY (B.-J.) and HANSON (R.-W.). — The influence of chemical and physicochemical Nature of macro-molecular polyanions on their interaction with human serum β lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 1960, 235, 2852.
6. BERTELSEN (S.). — Hexosamines, Hydroxyproline, and Calcium levels in the intima of the human aorta as related to age and atherosclerotic changes. *J. Geront.*, 1962, 17, 24.
7. BERTELSEN (S.) and MARKER (K.). — Isolation of hyaluronic acid and chondroitin sulphuric acid from human aortae. *Acta Pharmacol. (K. b. h.)*, 1961, 18, 1.
8. BOAS (N.-F.). — Method for the determination of hexosamines in tissues. *J. Biol. Chem.*, 1953, 204, 553.
9. BOLLET (A.-J.), ANDERSON (D.-V.) and SIMPSON W.-F.). — The measurement of tissue acid mucopolysaccharides. *J. Clin. Invest.*, 1958, 37, 858.
10. BOLLET (A.-J.), WANG (C.-I.), ADLERSBERG (D.). — Acid mucopolysaccharides content of the aorta in cholesterol fed rabbits. *Circulation*, 1958, 18, 481.
11. BOLLET (A.-J.), WANG (C.-I.) and ADLERSBERG (D.). — Experimental atheromatosis : acid mucopolysaccharide content of the aorta. *Circulat. Res.*, 1960, 8, 88.

12. BÖTTCHER (C.-J.), KLYNSTRA (F.-B.). — Content of acid mucopolysaccharides in the human aorta. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 263.
13. BOUCECK (R.-J.), NOBLE (N.-L.), WOESSNER (J.-F.). — Properties of fibroblasts. In I.H. PAGE. *Connective Tissue Thrombosis and Atherosclerosis*. Acad. Press ed. (N.Y.), 1959, 193.
14. BOUISSOU (H.), SENDRAIL-PESQUE (M.) et FABRE (J.). — La surcharge mucoïde : lésion de base en pathologie aortique. *Sem. Hôp. Paris*, 1963, 39, 214.
15. BUCK (R.-C.). — Uptake of radioactive sulphate by arteries of normal and cholesterol fed rabbits. *J. Histochem. Cytochem.*, 1955, 3, 435.
16. BUCK (R.-C.) and HEAGY (F.-C.). — Uptake of radioactive sulphur by various tissues of normal and cholesterol fed rabbits. *Canad. J. Biochem.*, 1958, 36, 63.
17. BUDDECKE (E.). — Untersuchungen zur Chemie des Arterienwand. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 1960, 318, 33.
18. BUDDECKE (E.). — Die Mucopolysacchariden der Arterienwand. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1961, 86, 1773.
19. BUDDECKE (E.). — Chemical changes in the ground substance of the vessel wall in arteriosclerosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 32.
20. BUSCARINI (L.). — Alterazioni delle glicoproteine nel siero e dell' esamina nella parete arteriosa durante le prime fasi dell' arteriosclerosi colesterolica nel coniglio. *Arch. Sci. Med.*, 1960, 116, 203.
21. CRANE (W.-A.). — Sulphate utilisation and M.P.S. synthesis by the mesenteric arteries of rats with experimental hypertension. *J. Path. Bact.*, 1962, 84, 113.
22. CURRAN (R.-C.). — The histological demonstration of connective Tissue mucopolysaccharides. *Biochem. Soc. Symposia* N° 20, 1961, 24.
23. CURRAN (R.-C.) and CRANE (W.-A.). — Mucopolysaccharides in the Atheromatous Aorta. *J. Path. Bact.*, 1962, 84,, 405.
24. DERBLOM (M.) and NYLANDER (G.). — The total hexosamine, glucosamine and galactosamine contents of the compressed arterial wall. *Acta. Soc. Med. Upsalien.*, 1962, 67, 42.
25. DISCHE (Z.). — A New Color reaction for hexuronic acids. *J. Biol. Chem.*, 1947, 167, 189.
26. DYRBYE (M.-O.). — Studies on the metabolism of the mucopolysaccharides of human arterial tissue by means of ³⁵S with special reference to changes related to age. *J. Geront.*, 1959, 14, 32.
27. DYRBYE (M.-O.) and KIRK (J.-E.). — Mucopolysaccharides of human arterial tissue. I. Isolation of mucopolysaccharide material. *J. Geront.*, 1957, 12, 20.
28. DYRBYE (M.-O.), KIRK (J.-E.) and WANG (I.). — Mucopolysaccharides of human arterial tissue. III. Separation of fraction by paper electrophoresis. *J. Geront.*, 1958, 13, 149.

29. ENOS (W.-F.), BEYER (J.-C.) and HOLMES (R.-H.). — Pathogenesis of coronary disease in American soldiers killed Korea. *J. Amer. Med. Ass.*, 1955, 158, 912.
30. ENSEME (J.), COTTET (J.) et Mme CLEPC. — Le séromucoïde perchloro-soluble au cours des phases évolutives de l'athérosclérose. *Arch. Mal. Cœur, Rev. Atheroscler.*, 1959, 1, 40.
31. ENSELME (J.) et FREY (J.). — Les protéines dans l'athérosclérose. *Path. Biol.*, 1962, 10, 93.
32. ENSELME (J.), FREY (J.) et HENRY (J.-C.). — Comparaison de la constitution du tissu aortique normal et athéromateux. *Bull. Soc. Chim. Biol. Paris*, 1961, 43, 1085.
33. ENSELME (J.) et GAUTHIER (M.). — Action athérosclérogène des complexes oxalique et acétique du cholestérol. *Bull. Acad. Méd.*, 1960, 144, 498.
34. FANGMAN (R.-J.) and HELLWIG (C.-A.). — Histology of coronary arteries in newborn infants. *Amer. J. Path.*, 1947, 23, 901.
35. FORMAN (D.-I.), MC CANN (D.-S.), MOSHER (R.-E.) and BOYLE (A.-J.). — The influence of experimentally induced atherosclerosis on the sulphate content of the aortic wall. *Circulat. Res.*, 1960, 8, 267.
36. FOX (H.). — Arteriosclerosis in lower mammals and birds : its relation to the disease in man. In *Atherosclerosis, a survey of the problem*. E.V. Cowdry, ed. (N.Y.), 1933.
37. FREY (J.). — Recherches relatives à l'extraction des protéines aortiques sur des fragments normaux et athéroscléreux. *Thèse Fac. Méd. Lyon*, 1960, n° 176.
38. GARDELL (S.). — Separation on Dowex 50 ion exchange resin of glucosamine and galactosamine and their quantitative determination. *Acta Chem. Scand.*, 1953, 7, 207.
39. GAULT (M.-H.) and USHER (R.). — Coronary thrombosis with myocardial infarction in a newborn infant. *New Engl. J. Med.*, 1960, 263, 379.
40. GERÖ (S.), GERGELY (J.), DEVENYI (T.), JAKAB (L.), SZEKELY (I.) and VIRAG (S.). — Role of intimal mucoïd substances in the pathogenesis of atherosclerosis. I. Complex formation *in vitro* between mucopolysaccharides from aortic intimas and plasma lipoproteins and fibrinogen. *J. Atheroscler. Res.*, 1961, 1, 67.
41. GERÖ (S.), GERGELY (J.), FARKAS (K.), DEVENYI (T.), KOSCAR (L.), JAKAB (L.), SZEKELY (J.) and VIRAG (S.). — Role of intimal mucoïd substance in the pathogenesis of atherosclerosis. II. Change of tissue and blood M.P.S. in cholesterol fed animals. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 276.
42. GONIN (H.) et DELAHAYE (J.-P.). — Comparaison de l'athérosclérose expérimentale et de l'athérosclérose humaine. *Path. et Biol.*, 1962, 10, 107.
43. GOTTLIEB (H.) and LALICH (J.-J.). — The occurrence of arteriosclerosis in the aorta of swine. *Amer. J. Path.*, 1954, 30, 851.

44. GRESHAM (G.-A.) and HOWARD (A.-N.). — Comparative histopathology of the atherosclerotic lesion. *J. Atheroscler. Res.*, 1963, 3, 161.
45. GRESHAM (G.-A.), HOWARD (A.-N.) and KING (A.-J.). — Histopathological study of the early atherosclerotic lesion. *Brit. J. Exp. Path.*, 1962, 43, 21.
46. GROSGOGÉAT (Y.), BRUY (J.) et LENÈGRE (J.). — Les lésions initiales de l'athérome expérimental : données de microscopie optique et électronique. *Arch. Mal. Cœur, Rev. Athéroscler.*, 1962, 4, 1.
47. HAUSS (W.-H.) und JUNGE-HÜLSING (G.). — Über die universelle unspezifische Mesenchymreaktion. *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, 86, 763.
48. HAUSS (W.-H.), JUNGE-HÜLSING (G.) and HOLLANDER (H.-J.). — Changes in metabolism of connective tissue associated with ageing and arterio- or atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 50.
49. HILZ (H.). — Changes in vessel wall enzyme activity in atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 252.
50. HILZ (H.) und UTERMAN (D.). — Der Sulfatstoffwechsel der Gefäßwand in Beziehung zur Arteriosklerose und seine Beeinflussung durch Sexualhormone. *Biochem. Z.*, 1960, 332, 376.
51. HUEPER (W.-C.). — Experimental studies in cardiovascular pathology. *Arch. Path.*, 1946, 41, 130.
52. JOKL (E.) and GREENSTEIN (J.). — Fatal coronary sclerosis in boy of ten years. *Lancet*, 1944, 2, 659.
53. KANABROCKI (E.-L.), GORDON FELS (I.), DECKER (C.-F.), KAPLAN (E.). — Total hexosamine, Sulphur, and nitrogen levels in human aortae. *J. Geront.*, 1963, 18, 18.
54. KAPLAN (D.) and MEYER (K.). — Mucopolysaccharides of aorta at various ages. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 1960, 105, 78.
55. KEMPF (E.) et MANDEL (P.). — Les nucléotides libres des aortes de bovidés adultes et âgés. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1961, 253, 2155.
56. KIRK (J.-E.) and DYRBYE (M.). — Hexosamine and acid hydrolysable sulphate concentrations of the aorta and pulmonary arteries in individuals of various ages. *J. Geront.*, 1956, 11, 273.
57. KIRK (J.-E.) and DYRBYE (M.). — Mucopolysaccharides of human arterial tissue : II. Analysis of total isolated mucopolysaccharide material. *J. Geront.*, 1957, 12, 23.
58. KIRK (J.-E.), WANG (C.-I.) and DYRBYE (M.). — Mucopolysaccharides of human arterial tissue. IV. Analysis of electrophoretically separated fractions. *J. Geront.*, 1958, 13, 362.
59. KITTINGER (G.-N.), WEXLER (B.-C.) and MILLER (B.-F.). — Metabolism of the arterial wall. Prague Congress 4th-9th September 1961. In *J. Atheroscler. Res.*, 1961, 1, 363.
60. KOWALEWSKI (K.). — Uptake of Radiosulphate by mucopolysaccharides of aorta in Cholesterol Fed Cockerels. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 1959, 101, 536.

61. KOWALEWSKI (K.). — Serum hexosamine, and hydroxyproline, in pullets fed atherogenic diet. *Arch. Int. Physiol.*, 1962, 70, 631.
62. KROMPECHER (I.). — Hypoxibiose und Mucopolysaccharid-Bildung in der Differenzierung und pathologie des Gewebe sowie über, der zusammenhang zwischen schilddrüsen funktion und mucopolysacchariden. J.A. Barth. Leipzig, 1960.
63. LINDSAY (S.) and CHAIKOFF (I.-L.). — Arteriosclerosis in the cat. Naturally occurring lesions in the aorta and the coronary arteries. *Arch. Path.*, 1955, 60, 29.
64. LINDSAY (S.) and CHAIKOFF (I.-L.). — Arteriosclerosis in the baboon. *Arch. Path.*, 1957, 63, 460.
65. LINDSAY (S.), CHAIKOFF (I.-L.) and GILMORE (J.-W.). — Arteriosclerosis in the dog. I. Spontaneous lesions in the aorta and the coronary arteries. *Arch. Path.*, 1952, 53, 281.
66. LINDSAY (S.), SKAHEN (R.) and CHAIKOFF (I.-L.). — Arteriosclerosis in the elephant. *Arch. Path.*, 1956, 61, 207.
67. LISON (L.). — Statistique appliquée à la biologie expérimentale. Gauthier-Villars, éd., 1958.
68. LISOVSKI (W.-A.), MIKISHKIN (M.-K.). — (En russe) Action de l'oxygène sur le développement de l'athérosclérose expérimentale du lapin. *Path. Fiziol. éksp. Ter.*, 1962, 6, 33.
69. LOEPER (J.), ORCEL (L.), LION (I.), BEURLET (J.). — Etude histologique des stades initiaux de l'athérosclérose. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 1961, 155, 466.
70. LOFLAND (H.-B.) and CLARKSON (T.-B.). — A biochemical study of spontaneous atherosclerosis in pigeons. *Circulat. Res.*, 1959, 7, 234.
71. LOOMEIJER (F.-J.) and OSTENDORF (J.-P.). — Oxygen Consumption of the thoracic aorta of normal and hypercholesterolemic rats. *Circulat. Res.*, 1959, 7, 466.
72. LORENZEN (L.). — Vascular Connective Tissue under the influence of thyroxine. *Acta Endocr. (Kbh.)*, 1961, 73, 191.
73. MC GILL (H.-C.), STRONG (J.-P.), HOLMAN (R.-L.) and WERTHESSEN (N.-I.). — Arterial lesions in the kenya baboon. *Circulat. Res.*, 1960, 8, 670.
74. MINKOWSKI (W.-L.). — Coronary arteries of infants. *Amer. J. Med. Sci.*, 1947, 214, 263.
75. MOON (H.-D.). — Coronary arteries in fetuses infants and juveniles. *Circulation*, 1957, 16, 263.
76. MOON (H.-D.). — Connective tissue reactions in the developement of arterosclerosis. In I.H. PAGE. *Connective tissue Thrombosis and atherosclerosis*. Acad. Press. Ed. (N.Y.), 1959, 33.
77. MOON (H.-D.) and RINEHART (J.-F.). — Histogenesis of coronary arteriosclerosis. *Circulat. Res.*, 1952, 6, 481.

78. MRHOVA (O.), ZEMPLÉNYI (I.) and LOJDA (Z.). — β Glucuronidase activity of the aorta in early stages of experimental rabbit atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1963, 3, 44.
79. MUNRO (A.-F.), RIFKIND (B.-M.), LIEBESCHUTZ (H.-J.), CAMPBELL (R.-S.-F.) and HOWARD (B.-R.). — The effect of cholesterol feeding on the oxygen consumption of aortic Tissue from the cockerel and the rat. *J. Atheroscler. Res.*, 1961, 1, 296.
80. NOBLE (N.), BOUCECK (R.-J.), KAO (K.-Y.-T.) and PARTIN (H.-C.). — Hexosamine concentration in normal and atheromatous human aortic connective tissue. *Fed. Proc.*, 1956, 15, 463.
81. PERRIN (A.). — Etude histochimique des protéines dans l'athérosclérose humaine. *Path. Biol.*, 1962, 10, 85.
82. PERTTALA (Y.). — Effect of the thyroid hormone on the uptake of radiosulphate ^{35}S by the aorta in normal and cholesterol fed cockerels. *Ann. Med. Exp. Fenn.*, 1960, 38, 326.
83. PICARD (J.). — Les mucopolysaccharides artériels et leurs variations dans l'athérosclérose. *Arch. Mal. Cœur. Rev. Atheroscler.*, 1962, 3, 29.
84. PICARD (J.), GARDAIS (A.) et LACORD-BONNEAU (M.). — Journées de la Société de Chimie Biologique. Bordeaux, 20-10-1962.
85. RINEHART (J.-F.). — Observations on the histogenesis and pathogenesis of arteriosclerosis with notes on experimental arteriosclerosis of pyridoxine deficiency. In G. Asboe-Hansen, *Connective Tissue in health and disease*. Ed. Munksgaard, Copenhagen, 1954.
86. RINEHART (J.-F.) and GREENBERG (L.-D.). — Arteriosclerotic lesions in pyridoxine deficient monkeys. *Amer. J. Path.*, 1949, 25, 481.
87. RINEHART (J.-F.) and GREENBERG (L.-D.). — Pathogenesis of experimental arteriosclerosis in pyridoxine deficiency. *Arch. Path.*, 1951, 51, 12.
88. SCHWARTZ (C.-J.), PETERS (J.-A.), and DAY (A.-J.). — The effects of hypercholesterolemia on the arterial ground substance in rabbit atherosclerosis. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1958, 36, 109.
89. SHIMAMOTO (I.). — The relationship of oedematous reactions in arteries to atherosclerosis and thrombosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1963, 3, 87.
90. STEINER (B.-E.), RASMUSSEN (T.-B.) and FISHER (L.-E.). — Neuropathy-cardiopathy, hemosiderosis and testicular atrophy in gorilla. *Arch. Path.*, 1955, 99, 563.
91. VASTESAEGER (M.), GILLOT (P.), et PARMENTIER (R.). — L'athérosclérose coronarienne chez les vertébrés supérieurs vivant en jardin zoologique. *Acta. Cardiol.*, 1960, 15, 12.
92. VIRCHOW (R.). — *Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin*. Frankfurt, 1856.
93. WEXLER (B.-C.), MILLER (B.-F.). — Coronary Arteriosclerosis and thrombosis in the rat. *Proc. Soc. Ex. Biol. (N.-Y.)*, 1960, 100, 573.

94. WEXLER (B.-C.), THOMAS (P.-D.), BROWN (E.) and MILLER (B.-F.). — Atherosclerosis in rats induced by repeated breedings, A.C.T.H. and unilateral nephrectomy. *Circulat. Res.*, 1960, 8, 278.
 95. WHEREAT (A.-T.). — Oxygen consumption of normal and atherosclerotic intima. *Circulat. Res.*, 1961, 9, 571.
 96. WINZLER (R.-J.). — Determination of glycoproteins. In D. Glick, *Methods of Biochemical analysis*. Interscience ed. (N.-Y.), 1955, vol. 2, 279.
 97. YATER (W.-M.), TRAUM (A.-H.), SPING (S.), BROWN (W.-G.), FITZGERALD (R.-P.), GEISLER (M.-A.) and WILCOX (B.-R.). — Coronary artery disease in men eighteen to thirty nine years of age. Report of 866 cases, 450 with necropsy examinations. *Amer. Heart. J.*, 1948, 36, 334.
 98. ZEMPLÉNYI (T.). — Enzymes of the arterial wall. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, 2, 2.
 99. ZEMPLÉNYI (T.), MRHOVA (O.) and LOJDA (Z.). — Phosphomonoesterase and adenylypyrophosphatase activities of the aorta in early stages of experimental atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.*, 1963, 3, 50.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
 <i>Chapitre premier.</i> — Les connaissances actuelles sur l'histogénèse des lésions athéroscléreuses.	
I. Athérosclérose humaine	15
II. Athérosclérose animale spontanée	18
III. Athérosclérose expérimentale chez l'animal soumis à un régime hypercholestérolé	19
IV. Athérosclérose expérimentale induite par d'autres procédés ..	21
 <i>Chapitre second.</i> — Connaissances chimiques sur les modifications des mucopolysaccharides artériels dans l'athérosclérose humaine et dans les stades initiaux de l'athérosclérose expérimentale.	
I. Modification des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose humaine	24
II. Modification des constituants mucopolysaccharidiques de la paroi artérielle dans l'athérosclérose expérimentale	30
 <i>Chapitre troisième.</i> — Technique et résultats personnels.	
I. Généralités	41
II. Protocole expérimental	42
III. Résultats	46
IV. Discussion	53
 CONCLUSIONS	 55
 BIBLIOGRAPHIE	 57

Imprimerie GRENIER & FILS
215, Avenue Charles de Gaulle
TASSIN - LA - DEMI - LUNE
(Rhône)
